

SÉRIE A, N° 1788

N° D'ORDRE

2654

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

EDGAR LEDERER

1^{re} Thèse : Recherches sur les caroténoïdes des Animaux inférieurs et des Cryptogames.

2^{me} Thèse : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 1938, devant la Commission d'examen

7 AVR. 1938

Président : MM. G. URBAIN,

Examineurs : { M. JAVILLIER.
F. PERRIN.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1938

SÉRIE A, N° 1788

N° D'ORDRE

2654

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

EDGAR LEDERER

1^{re} Thèse : **Recherches sur les caroténoïdes des Animaux inférieurs et des Cryptogames.**

2^{me} Thèse : **Propositions données par la Faculté.**

Soutenues le

-7 AVR. 1938

1938, devant la Commission d'examen

Président : MM. G. URBAIN,

Examineurs : { M. JAVILLIER.
F. PERRIN.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1938

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire..... M. MOLLIARD.

Doyen..... C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du Globe.

<i>Professeurs honoraires.</i>	H. LEBESGUE.	BLAISE.	G. BERTRAND.
	A. FERNBACH.	DANGEARD.	ABRAHAM.
	EMILE PICARD.	LESPIEAU.	Ch. FABRY.
	Léon BRILLOUIN.	MARCHIS.	Léon BERTRAND.
	GUILLET.	VESSIOT.	WINTREBERT.
	PÉCHARD.	PORTIER.	DUBOSQ.
	FREUNDLER.	MOLLIARD.	BOHN.
	AUGER.	LAPICQUE.	

PROFESSEURS

M. CAULLERY.....	T Zoologie (Evolution des êtres organisés).	H. BÉGHIN.....	T Mécanique physique et expérimentale.
G. URBAIN.....	T Chimie générale.	FOCH.....	Mécanique expérimentale des fluides.
Emile BOREL.....	T Calcul des probabilités et Physique mathém.	PAUTHENIER.....	Physique (P.C.B.).
Jean PERRIN.....	T Chimie physique.	DE BROGLIE.....	T Théories physiques.
E. CARTAN.....	T Géométrie supérieure.	CHRÉTIEN.....	Optique appliquée.
A. COTTON.....	T Recherches physiques.	P. JOB.....	Chimie générale.
J. DRACH.....	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	LABROUSTE.....	Physique du Globe.
Charles PÉREZ.....	T Zoologie.	PRENANT.....	T Anatomie et Histologie comparées.
E. RABAUD.....	T Biologie expérimentale	VILLEY.....	Mécanique physique et expérimentale.
M. GUICHARD.....	Chimie minérale.	COMBES.....	T Physiologie végétale.
Paul MONTEL.....	T Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	GARNIER.....	T Mathématiques générales.
L. BLARINGHEM.....	T Botanique.	PÉRÈS.....	Mécanique théorique des fluides.
G. JULIA.....	T Mécanique analytique et Mécanique céleste.	HACKSPILL.....	Chimie (P.C.B.).
C. MAUGUIN.....	T Minéralogie.	LAUGIER.....	T Physiologie générale.
A. MICHEL-LÉVY.....	T Pétrographie.	TOUSSAINT.....	Technique Aéronautique.
H. BÉNARD.....	T Mécanique expérimentale des fluides.	M. CURIE.....	Physique (P.C.B.).
A. DENJOY.....	T Application de l'analyse à la Géométrie.	G. RIBAUD.....	T Hautes températures.
L. LUTAUD.....	T Géographie physique et géologie dynamique.	CHAZY.....	T Mécanique rationnelle.
Eugène BLOCH.....	T Physique.	GAULT.....	Chimie (P.C.B.).
G. BRUHAT.....	T Physique.	CROZE.....	Recherches Physiques.
E. DARMOIS.....	T Enseignement de Physique.	DUPONT.....	T Théories chimiques.
A. DEBIERNE.....	T Physique Générale et Radioactivité.	LANQUINE.....	T Géologie structurale et géologie appliquée.
A. DUFOUR.....	T Physique (P.C.B.).	VALIRON.....	Mathématiques générales.
L. DUNOYER.....	Optique appliquée.	BARRABÉ.....	Géologie structurale et géologie appliquée.
A. GUILLIERMOND.....	T Botanique.	MILLOT.....	Zoologie (P. C. B.).
M. JAVILLIER.....	T Chimie biologique.	F. PERRIN.....	Théories physiques.
L. JOLEAUD.....	Paléontologie.	VAVON.....	Chimie organique.
ROBERT LÉVY.....	T Physiologie comparée.	G. DARMOIS.....	Calcul des probabilités et l'Physique mathém.
F. PICARD.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).	CHATTON.....	T Biologie maritime.
Henri VILLAT.....	T Mécanique des fluides et applications.	AUBEL.....	Chimie biologique.
Ch. JACOB.....	T Géologie.	Jacques BOURCART.	Géologie dynamique.
P. PASCAL.....	T Chimie minérale.	M ^{me} JOLIOT-CURIE..	Physique générale et Radioactivité.
M. FRÉCHET.....	T Calcul différentiel et Calcul intégral.	PLANTEFOL.....	Biologie végét. (P.C.B.)
E. ESCLANGON.....	T Astronomie.	CABANNES.....	Enseignement de Physique.
M ^{me} RAMART-LUCAS.	T Chimie organique.	GRASSÉ.....	Biologie anim. (P.C.B.)
		PRÉVOST.....	Chimie (P.C.B.).

Secrétaire..... A. PACAUD.

Secrétaire honoraire..... D. TOMBECK



A MONSIEUR GABRIEL BERTRAND,

MEMBRE DE L'INSTITUT.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Recherches sur les caroténoïdes des Animaux Inférieurs et des Cryptogames,

INTRODUCTION.

Les caroténoïdes dont la constitution chimique était en 1928 presque inconnue encore, ont fait, depuis, l'objet de brillantes études dans les laboratoires de KARRER, de KUHN et de ZECHMEISTER. Aujourd'hui nous connaissons très exactement la constitution chimique de beaucoup de ces pigments naturels ; les problèmes purement chimiques qui restent à résoudre dans ce domaine sont surtout d'ordre synthétique et présentent encore à l'heure actuelle des difficultés considérables.

Le nombre des caroténoïdes naturels connus à l'état pur est passé depuis 1928 de 4 ou 5 à une quarantaine (voir tableau I, p. 84). Ce développement est dû à l'application de l'adsorption chromatographique de TSWETT, que nous avons été des premiers à introduire dans la chimie préparative des caroténoïdes.

Pour leurs études chimiques les savants avaient besoin de grandes quantités de pigments et se sont intéressés exclusivement pour cette raison aux plantes supérieures, à leurs feuilles, pétales ou fruits que l'on peut facilement avoir en grande quantité. C'est surtout pour cette raison que les caroténoïdes des plantes sont les mieux connus à l'heure actuelle. Les pigments correspondants des plantes inférieures et des animaux sont restés dans une pénombre que de nombreux chercheurs antérieurs n'avaient pu éclairer.

Les recherches de ZECHMEISTER ont montré depuis, que les caroténoïdes des Mammifères et des Oiseaux ne sont que des pigments végétaux absorbés avec la nourriture et restés inchangés.

Ce qui restait donc à faire dans le domaine de la biochimie des caroténoïdes, c'était l'étude des pigments des Animaux inférieurs et des Cryptogames, étude qui promettait la découverte de nouveaux pigments et l'éclaircissement de plusieurs questions biologiques.

Nous espérons montrer dans les pages qui suivent, que ces espérances ont été réalisées — en partie au moins (voir le résumé, p. 82).

Notre travail est nécessairement resté très incomplet ; d'abord

par suite des difficultés considérables que nous avons eu à nous procurer les espèces désirées ou des quantités suffisantes de ces espèces ; puis par suite de difficultés d'ordre matériel qui nous ont souvent empêché de travailler à une grande échelle. C'est pourquoi on trouvera dans notre travail des observations d'une valeur très irrégulière : quelques-unes purement spectroscopiques et faites sur des quantités de pigments infinitésimales, d'autres plus détaillées et faites sur des préparations cristallisées.

Nos observations concernant 22 espèces d'Animaux inférieurs et 12 espèces de Cryptogames ; nous les avons classées suivant la systématique naturelle (voir tableau II, p. 86) ; les nouveaux caroténoïdes sont traités à propos de l'espèce dans laquelle nous les avons trouvés.

Nous avons pensé inutile de répéter les notions générales sur les caroténoïdes puisque nous les avons déjà exposées dans deux monographies.

Bien conscient des défauts et des limites de notre travail, nous espérons quand même qu'il pourra indiquer à d'autres chercheurs quelques voies à suivre et de nouveaux pigments à étudier.

Je remercie MM. G. BERTRAND, G. URBAIN, M. JAVILLIER et F. PERRIN de l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ma thèse.

J'exprime également ma reconnaissance à MM. AUBEL, R. FABRE, H. PLOTZ, M. SCHOEN et R. WURMSER de l'aide qu'ils m'ont apporté en diverses circonstances et sous diverses formes.

Mes remerciements vont enfin à Mme Y. KHOUVINE dont l'obligeance au laboratoire m'a été toujours d'un grand secours.

Ce travail a été subventionné par la *Ella Sachs-Plotz Foundation* à laquelle j'adresse ici mes très vifs remerciements.

PREMIÈRE PARTIE.

MÉTHODES.

Nous pensons qu'il n'est pas inutile de faire quelques remarques générales sur les méthodes employées dans le présent travail, bien que plusieurs monographies récentes traitent ce sujet. (LEDERER 4, 11, WILLSTAEDT 2, ZECHMEISTER 1).

Dans des sources naturelles on trouve rarement un caroténoïde seul, mais le plus souvent des mélanges de plusieurs d'entre eux qu'il faut d'abord séparer pour obtenir des corps purs.

Pour effectuer ces séparations on utilise deux méthodes principales qui se complètent l'une l'autre. Ce sont : le partage par l'éther de pétrole et le méthanol (KRAUSS, SORBY, WILLSTÄTTER) et l'adsorption chromatographique de M. TSWETT. On trouvera une description détaillée de ces méthodes dans les livres cités ci-dessus et dans les monographies et articles sur l'analyse chromatographique (LEDERER 12, WINTERSTEIN, ZECHMEISTER et CHOLNOKY 2).

L'obtention de caroténoïdes purs, cristallisés, peut être divisée schématiquement en quatre opérations : extraction, partage entre solvants, adsorption et cristallisation.

1) EXTRACTION. — Pour cette opération nous nous sommes presque toujours servi de l'acétone. Ce solvant dessèche la matière organique et extrait en même temps les pigments. L'acétone a aussi l'avantage de ne pas dissoudre les phosphatides. L'extrait obtenu par l'acétone ne contient donc que peu de ces corps.

Pour séparer les caroténoïdes d'autres pigments et des substances solubles dans l'acétone, on dilue l'acétone avec de l'eau et on l'agite avec de l'éther de pétrole qui extrait les caroténoïdes avec les graisses. Dans l'acétone aqueux restent les flavines et d'autres corps colorés et non colorés. La quantité d'eau qu'il faut ajouter à l'acétone dépend de la quantité d'eau extraite de la matière organique, de la quantité de graisses contenue dans l'extrait et de la nature des caroténoïdes. Les hydrocarbures et les esters passent facilement dans l'éther de pétrole ; les xanthophylles à plusieurs atomes d'oxygène y passent seulement après forte dilution avec de l'eau.

L'éther de pétrole est ensuite lavé par l'eau pour en enlever l'acétone. Ce lavage produit souvent des émulsions désagréables.

2) PARTAGE ENTRE SOLVANTS. — On peut distinguer deux groupes de caroténoïdes d'après leur solubilité : pigments plus solubles dans l'éther de pétrole que dans le méthanol à 90 p. 100, et pigments moins solubles dans l'éther de pétrole que dans le méthanol à 90 p. 100. Les premiers sont appelés pigments *épiphasiques*, les seconds pigments *hypophasiques*.

Sont *épiphasiques* : les hydrocarbures, les caroténoïdes contenant un seul atome d'oxygène (— OH ou = CO), les esters des xanthophylles, quelques esters de l'astacine et les caroténoïdes à groupes méthoxyles.

Sont *hypophasiques* : les xanthophylles libres ayant plus d'un groupe hydroxyle, l'astacine, quelques-uns de ses esters et les acides.

Un seul partage entre l'éther de pétrole et le méthanol à 90 p. 100 ne suffit pas pour séparer complètement les pigments *épiphasiques* et *hypophasiques*. Le degré de séparation dépend du coefficient de partage et quand la différence entre les solubilités dans les deux solvants n'est pas grande, il faut répéter le partage assez souvent.

Les caroténoïdes à un groupe hydroxyle (cryptoxanthine, rubixanthine, lycopanthine) restent dans l'éther de pétrole avec les hydrocarbures. On peut les en séparer en agitant l'éther de pétrole avec du méthanol à 95 p. 100.

La séparation des hydrocarbures et des esters des xanthophylles se fait par saponification. Nous effectuons cette opération en phase homogène et à la température ordinaire. Nous ajoutons à la solution des pigments *épiphasiques* dans l'éther de pétrole de la lessive de soude concentrée et autant d'alcool absolu qu'il est nécessaire pour obtenir une solution homogène. Après 6 heures ou plus on ajoute un peu d'eau pour obtenir la formation de deux couches : la première, formée par l'éther de pétrole contiendra les hydrocarbures et les pigments à un seul atome d'oxygène ; la deuxième formée par le méthanol aqueux contiendra les xanthophylles saponifiées, l'astacine et d'autres corps acides.

La séparation des xanthophylles saponifiées de ces autres pigments peut être effectuée comme suit : on dilue l'alcool alcalin avec son même volume d'eau et l'agite plusieurs fois avec de l'éther de pétrole. Les xanthophylles, n'ayant pas de caractère acide, passent dans l'éther de pétrole. Le sel de sodium de l'astacine au contraire, précipite sous forme de flocons rouges. On peut en libérer l'astacine en ajoutant de l'acide acétique dilué. On obtient ainsi très souvent des cristaux d'astacine.

3) ADSORPTION. — Le comportement d'un caroténoïde à l'adsorption doit être considéré comme le critère le plus important de sa pureté. (Pour des descriptions de la méthode voir LEDERER, 12 ; WINTERSTEIN, ZECHMEISTER et CHOLNOKY, 2).

Pour l'adsorption des *caroténoïdes épiphasiques*, on emploie surtout comme solvant l'éther de pétrole, et comme adsorbants les oxydes d'aluminium, de calcium et de magnésium. Les oxydes d'aluminium sont assez chers, aussi on leur substitue le plus souvent les oxydes de calcium ou de magnésium.

Quelques auteurs (ZECHMEISTER et autres) utilisent le sulfure de carbone comme solvant. Nous trouvons que l'emploi de ce solvant si nocif et si dangereux peut être évité facilement, d'autant plus qu'il détruit souvent les caroténoïdes.

L'adsorption permet de séparer aisément les hydrocarbures des caroténoïdes contenant un atome d'oxygène (KUHN et GRUNDMAN, 1). La séparation des carotènes α et β sur l'oxyde de calcium décrite par KARRER et WALKER ne réussit pas toujours.

L'élution des hydrocarbures s'effectue en traitant l'adsorbat par de l'éther de pétrole contenant 1 p. 100 d'alcool ou de méthanol.

Récemment GILLAM et EL RIDI ont décrit des changements intéressants subis par les carotènes α et β au cours de l'adsorption sur de l'oxyde d'aluminium. Une partie de ces pigments subit une isomérisation au cours de laquelle une double liaison change de place. Ainsi se forment de nouveaux pigments : le pseudo-carotène α à partir du carotène β et le néo-carotène à partir du carotène α . L'oxyde de magnésium ne produit pas cet effet. Ces travaux de GILLAM et collaborateurs sont très importants car ils montrent qu'il faut parfois employer l'adsorption chromatographique avec précaution (1).

Pour l'adsorption des *xanthophylles* on emploie d'habitude comme solvant l'éther de pétrole. Mais les xanthophylles contenant plusieurs atomes d'oxygène (4 à 8) ne s'y dissolvent pas très facilement. Dans ces cas il faut se servir du benzène ou d'un mélange d'éther de pétrole et de benzène. Comme adsorbant on emploie le carbonate de calcium, dont il existe plusieurs préparations de différentes grosseurs de grains d'où différents pouvoirs d'absorption. (ZECHMEISTER et CHOLNOKY). Dans quelques cas nous avons trouvé plus pratique d'effectuer une première séparation sommaire par adsorption sur l'oxyde de calcium ou l'oxyde de magnésium, et de séparer ensuite les fractions ainsi obtenues sur le carbonate de calcium.

L'élution des xanthophylles adsorbées se fait le plus souvent avec de l'éther de pétrole contenant un peu d'alcool. Pour les xanthophylles à plusieurs atomes d'oxygène il faut se servir d'alcool ou de méthanol pur ou de benzène mélangé à l'alcool.

Avec les caroténoïdes des Animaux inférieurs il a souvent fallu effectuer une comparaison exacte de deux pigments ; c'est ce qu'a permis notre *méthode des trois tubes*. Nous préparons des solu-

(1) Voir aussi l'isomérisation spontanée du lycopène et d'autres caroténoïdes décrite par ZECHMEISTER et TUSZON (11).

tions des deux pigments à comparer dans le même solvant (éther de pétrole ou benzène) et les ajustons à égale intensité de couleur. Puis nous remplissons trois tubes identiques avec le même adsorbant. Sur les deux premiers nous adsorbons les solutions des deux pigments à comparer et sur le troisième un mélange à parties égales des deux solutions. Les trois tubes sont branchés sur la même source de vide et on y fait passer le même volume de liquide. Nous lavons ensuite les trois tubes avec un volume égal de solvant. Si les deux pigments sont identiques les zones formées sur les trois tubes sont identiques ; une différence dans la coloration ou la position des zones, ou la formation de deux zones distinctes sur le troisième tube indique que les deux pigments sont différents. (Voir aussi ZECHMEISTER et CHOLNOCKY, 2, « Mischchromatogramm »).

L'astacine est adsorbée sur les oxydes métalliques sous forme d'une zone rouge-violette foncée située sur la partie supérieure de la colonne. L'élution en est souvent difficile et ne peut se faire qu'avec de la potasse alcoolique.

L'ester hypophasique de l'astacine (« l'ovoester ») est adsorbé sur le carbonate de calcium et peut en être facilement élué avec de l'éther de pétrole contenant un peu d'alcool.

4) CRISTALLISATION. — La cristallisation des *hydrocarbures* s'effectue d'habitude après l'adsorption. On élue le pigment avec l'éther de pétrole contenant un peu d'alcool, puis on évapore la solution colorée à un petit volume. Après addition d'alcool absolu ou de méthanol des cristaux se forment ; ils sont souvent mélangés à des impuretés incolores que l'on peut éliminer par des cristallisations répétées en changeant de solvant. C'est ainsi que l'on obtient souvent de très beaux cristaux en dissolvant le pigment dans le benzène et en y ajoutant de l'alcool. JAVILLIER et EMERIQUE ont utilisé une méthode analogue consistant à précipiter par le méthanol une solution de carotène dans le sulfure de carbone. Souvent il est difficile d'obtenir des préparations exemptes de matières inorganiques provenant de l'adsorption. Dans ce cas aussi on essaie de les éliminer en changeant de solvant.

La cristallisation des *xanthophylles* s'effectue également après l'adsorption. Les éluats (éther de pétrole ou benzène) contenant un peu d'alcool, sont évaporés à un petit volume. A cette étape déjà, on obtient souvent des cristaux. (Voir par exemple pentaxanthine, p. 51). On peut aussi procéder d'après la méthode suivante, qui donne un produit brut cristallisé : après séparation des xanthophylles et des pigments épiphasiques au moyen du méthanol à 90 p. 100 on sépare la couche alcoolique contenant les xanthophylles et y ajoute un peu d'éther de pétrole et de l'eau jusqu'à formation d'un trouble. Après quelques temps les

xanthophylles, insolubles dans l'alcool dilué et peu solubles dans l'éther de pétrole, cristallisent et se rassemblent sous la couche d'éther de pétrole. (KUHN, WINTERSTEIN et LEDERER). Dans un cas nous avons même obtenu des cristaux après avoir évaporé l'éther de pétrole qui contenait toutes les matières grasses extraites de l'organe animal (voir pectenoxanthine, p. 29). La recristallisation des xanthophylles peut s'opérer en dissolvant le pigment dans le méthanol à chaud additionné, si nécessaire, d'un peu d'éther. On peut aussi recristalliser les xanthophylles contenant plusieurs groupes hydroxyles, à partir du benzène (voir pentaxanthine, p. 51). En faisant cristalliser un pigment à partir d'un éluat de carbonate de calcium on obtient souvent aussi des produits contenant un résidu inorganique. Pour éliminer ces impuretés on dissout les cristaux dans le benzène, agite cette solution avec de l'eau en y faisant passer du CO_2 ; puis on filtre la solution benzénique à travers un filtre d'éna dense.

Il est très difficile d'obtenir à l'état pur et cristallisé les *esters des xanthophylles* (sauf la physaliène). Ces corps sont facilement solubles dans l'éther de pétrole et peu solubles dans le méthanol ; en se servant de ces propriétés on peut essayer de les purifier (KUHN, WINTERSTEIN et LEDERER, ZECHMEISTER et CHOLNOKY).

D'habitude, pour obtenir à l'état cristallisé l'*astacine* et les pigments acides qui lui ressemblent, on ajoute de l'acide acétique à la solution alcoolique alcaline de leurs sels. Quelquefois on obtient leurs sels sous forme de flocons rouges que l'on peut filtrer et suspendre dans l'alcool dilué ; après addition d'acide acétique le pigment cristallise.

Pour recristalliser l'*astacine* on la dissout dans la pyridine à chaud et filtre la solution rouge foncée. Après addition d'un peu d'eau au filtrat on obtient des cristaux étincelants d'*astacine* (KUHN et LEDERER, 7).

Nous nous sommes également servi de pyridine diluée d'eau pour recristalliser la pectenoxanthine (p. 29).

DEUXIÈME PARTIE.

LES CAROTÉNOÏDES DES VERTÉBRÉS INFÉRIEURS.

Les caroténoïdes des *Mammifères* sont des pigments d'origine végétale qui ont pénétré dans leur corps avec la nourriture ; l'organisme les accumule dans la graisse des glandes endocrines et dans la graisse sous-cutanée. (ZECHMEISTER et TUSZON) (1).

Pour les *Oiseaux*, la question se pose d'une façon différente. On peut y distinguer deux groupes de caroténoïdes d'après leur nature. Le premier est formé par les pigments des graisses sous-cutanées et par le pigment du jaune d'œuf, substances d'origine purement végétale. (KUHN, WINTERSTEIN et LEDERER ; ZECHMEISTER et TUSZON). Le deuxième est formé par les caroténoïdes des *plumes*. Ces pigments ne sont pas identiques aux caroténoïdes des végétaux ; ils sont souvent spécifiques pour l'espèce considérée et sont des produits de *transformation des caroténoïdes végétaux*. (BROCKMANN et VOELCKER).

Dans cet ordre d'idées les caroténoïdes de la *peau des Vertébrés inférieurs* acquièrent une importance spéciale puisqu'ils donnent aussi, comme les pigments du plumage des Oiseaux, la coloration caractéristique de l'espèce. Nous avons toutes les raisons de croire que ces pigments comme ceux des plumes des oiseaux ne sont pas seulement des pigments végétaux inchangés, mais bien des corps nouveaux.

Cela était d'autant plus justifié que VERNE a montré que les caroténoïdes de la peau des Reptiles, des Amphibies et des Poissons se trouvent dans des cellules spéciales, les chromatophores qui seraient capables d'élaborer leur propre pigment.

I. — Poissons.

Nos connaissances des lipochromes de la peau des poissons reposent pour la plupart sur des observations spectroscopiques ; MEREJKOWSKY, KRUKENBERG, MAC MUNN et LÖNNBERG y ont trouvé des lipochromes ressemblant au carotène ou à des xanthophylles. Aucun de ces corps n'a été cependant identifié ou obtenu à l'état cristallisé.

D'après LÖNNBERG la peau de la plupart des poissons étudiés contient une xanthophylle avec des bandes à 487 et 456 m μ . (dans l'éther de pétrole). Ces bandes correspondent à celles de la zéaxanthine, mais il faut remarquer que toutes les recherches de LÖNNBERG ont été faites sur des extraits bruts non saponifiés

(1) Voir le récent exposé de ZECHMEISTER [4].

et non purifiés par l'adsorption. C'est pourquoi toutes ses déterminations ont un caractère fortuit et incertain et ne permettent pas d'identifier les pigments.

En 1935 nous avons étudié le pigment rouge de la peau d'un poisson d'eau de mer, la Dorade (*Beryx decadactylus*) et d'un poisson d'eau douce, le Poisson rouge (*Carassius auratus*). Dans ces deux cas il s'agit d'esters épiphasiques de l'astacine à partir desquels nous avons obtenu l'astacine à l'état cristallisé. C'est la première fois que l'astacine a été identifiée avec certitude chez un poisson (LEDERER, 10).

Depuis, SOERENSEN s'est occupé du pigment de la chair du saumon que EULER, HELLSTRÖM et MALMBERG avaient cru différent de l'astacine et avaient nommé *acide salménique*. SOERENSEN a trouvé qu'il s'agissait tout simplement d'astacine. (Voir aussi EMMERIE, EEKELEN, JOSEPHY et WOLFF).

SUMNER et FOX ont publié plusieurs travaux intéressants d'après lesquels la peau des poissons *Fundulus parvipinnis* et *Hypsypops rubicunda* contiennent des xanthophylles estérifiées qui ressemblent par leur spectre d'adsorption et le manque de coloration avec l'acide chlorhydrique concentré à la *taraxanthine*.

En 1936 nous avons étudié les caroténoïdes de quelques poissons provenant de la région de Leningrad et de Mourmansk. Dans la peau de *Sebastes marinus* nous avons également trouvé de l'astacine ; dans la peau de la Perche (*Perca fluviatilis*) nous avons trouvé une fois de l'astacine, et une fois une xanthophylle ressemblant beaucoup à la taraxanthine. Ce dernier pigment se trouve également dans la peau du Brochet (*Esox lucius*) et de la Lotte (*Lota lota*) et correspond au pigment décrit par SUMNER et Fox.

En outre nous avons examiné le pigment des ovaires de *Eleginus Navaga* ; c'est un mélange de carotène β et de 3 xanthophylles ayant toutes le même spectre d'adsorption rappelant celui de la zéaxanthine.

Parmi les six espèces de Poissons dont nous avons étudié le pigment de la peau, trois contiennent de l'astacine et trois de la taraxanthine (ou un pigment très proche). A ce deuxième groupe on peut ajouter les deux poissons *Fundulus parvipinnis* et *Hypsypops rubicunda* dont la peau contient également de la taraxanthine (SUMNER et Fox) (1).

L'astacine et la taraxanthine contiennent chacune 4 atomes d'oxygène ; aussi sommes-nous portés à croire à une relation entre elles (2). Peut-être la taraxanthine de la nourriture (provenant des algues, dans lesquelles l'ont trouvé HEILBRON et coll.) est-elle oxydée par les Poissons et transformée en astacine. Peut-

(1) Voir aussi les observations analogues de LÖNNBERG [11]

(2) Surtout parce que nous avons trouvé dans *Perca fluviatilis* une fois l'un, une fois l'autre de ces pigments.

être aussi les deux pigments sont-ils d'origine alimentaire (l'astacine provenant des Crustacés). Dans ce cas il faudrait croire à un mécanisme de sélection qui ferait passer dans la peau (excréter par les chromatocytes) justement ces deux pigments à 4 atomes d'oxygène. (Voir par exemple YOUNG et FOX) (1).

Rappelons encore que l'huile de foie de *Lophius piscatorius* contient d'après SOERENSEN [2] un mélange d'astacine et de « taraxanthine ».

1) *Beryx decadactylus* C. V. (Dorade).

TUTIYA s'est récemment occupé du pigment de la peau de *Beryx splendens* Loewe, sans pouvoir l'obtenir à l'état cristallisé ; il s'agit probablement aussi d'astacine.

ESSAIS. — Nous avons travaillé avec 3 animaux provenant de la Rochelle et pesant ensemble environ 5 kg. La peau de ces animaux est colorée en un rouge vif, particulièrement sur le dos de la tête. Quand on traite ces parties par l'acétone, celle-ci ne se colore pas très fortement, mais des gouttelettes rouges se détachent de la peau et tombent au fond du vase. Ces gouttes sont peu solubles dans l'acétone, mais très solubles dans l'éther de pétrole ; elles consistent probablement en phosphatides. Nous avons repris par l'éther de pétrole les gouttelettes grasses et le pigment extrait par l'acétone. L'éther de pétrole, coloré en rouge foncé ne cède pas de pigment à l'alcool méthylique à 90 p. 100 ; il n'y a donc pas de xanthophylles ni d'astacine libre. Après saponification avec de la potasse alcoolique il se forme une gelée rouge. Nous l'avons dissoute dans l'alcool en chauffant légèrement.

Par refroidissement la gelée se reforme, mais elle est déjà moins colorée ; en la traitant plusieurs fois par l'alcool à 95 p. 100 on obtient un résidu presque incolore, tandis que le pigment passe entièrement dans l'alcool alcalin. L'astacine devrait cristalliser à partir de cette solution, après acidification par l'acide acétique. Cependant, par suite de la présence de grandes quantités d'acides gras, le pigment reste en solution. Pour le purifier nous l'avons repris par l'éther de pétrole et avons agité cette solution plusieurs fois avec une solution aqueuse de carbonate de sodium ; des savons se forment qui adsorbent la majeure partie du pigment ; nous les avons lavés plusieurs fois avec de l'alcool à 90 p. 100 qui dissout tout le pigment et seulement une partie des savons. Nous avons de nouveau repris le pigment par l'éther de pétrole et avons répété le traitement par le carbonate de sodium et l'alcool. On se débarrasse ainsi de la plus grande partie des acides gras. La solution alcoolique alcaline obtenue laisse déposer des cristaux d'astacine après acidification par l'acide acétique dilué (3 mg., rendement 25 p. 100). Après les avoir recristallisé trois fois à partir de la pyridine diluée d'eau nous avons obtenu 1 mg. d'astacine sous forme d'aiguilles bleu-violettes fondant à 228-230° (tous les points de fusion de ce travail ont été déterminé avec l'appareil microscopique de REICHERT avec thermo-élément d'après KOFLER). Le spectre d'ab-

(1) Nous nous apercevons que BURKHARDT, HEILBRON, JACKSON, PARRY et LOVERN avaient déjà émis des idées analogues.

sorption des cristaux purs montre la bande caractéristique de l'astacine (500 m μ dans la pyridine).

La muqueuse des *branchies* et de l'intérieur de la *bouche* ainsi que la *sclérotique* et l'*iris* de l'œil doivent également leur couleur à un ester d'astacine. Notons que LÖNNBERG (9) a déjà constaté la présence de caroténoïdes dans les yeux de quelques Poissons.

La *rétine* ne contient de trace d'aucun caroténoïde, mais au contraire un pigment jaune hydrosoluble à fluorescence verte ; d'après toutes ses propriétés c'est une *flavine*. EULER et HELLSTRÖM avaient déjà trouvé des flavines dans la rétine de certains poissons.

Le *foie* et le *cœur* sont dépourvus de caroténoïdes.

2) *Carassius auratus* (Poisson rouge).

Le pigment de la peau de ce poisson a été déjà l'objet de plusieurs études qui n'ont cependant pas apporté de résultats définitifs. D'après CUNNINGHAM et MAC MUNN il s'agirait de lycopène, d'après KRUKENBERG de « rhodophane » et d'après WEISSBERGER et BACH d'un acide non encore identifié.

ESSAIS. — Nous avons plongé dans l'acétone 200 poissons rouges de petite taille et pesant ensemble 900 g. ; le solvant se colore immédiatement en rouge et après 4 extractions les poissons sont presque entièrement décolorés. Après dilution de l'acétone avec de l'eau le pigment passe entièrement dans l'éther de pétrole. Ce solvant cède une petite quantité de xanthophylle (100 γ) au méthanol à 90 p. 100. Après saponification, la plus grande partie du colorant passe dans la couche alcaline ; après addition d'eau et d'éther de pétrole il se forme un précipité rouge contenant le sel de sodium de l'astacine et des savons. Nous avons séparé ce précipité et l'avons dissout dans de l'acide acétique dilué en présence d'alcool et d'éther de pétrole. En ajoutant alors de l'eau on obtient des cristaux d'astacine que nous avons recristallisé trois fois suivant la méthode habituelle. Nous avons obtenu ainsi 1 mg. d'aiguilles bleu-violettes (rendement environ 30 p. 100) à reflets métalliques, fondant à 227-229° et montrant dans la pyridine une large bande à 500 m μ .

La fraction des hydrocarbures (50 γ) consistait essentiellement en carotène β (483 m μ dans l'éther de pétrole). La fraction des esters de xanthophylles (100 γ) formait sur le carbonate de calcium deux zones oranges (478,443 m μ et 481,449 m μ dans l'éther de pétrole).

3. *Sebastes marinus*.

Les nageoires et quelques parties de la peau de ce poisson sont colorées en rouge vif. Le pigment rouge s'oxyde assez rapidement et disparaît après quelque temps, même chez des animaux frigorifiés. Ce pigment n'est autre chose qu'un *ester épiphasique de l'astacine*.

ESSAIS. — Nous avons reçu quelques nageoires de cet animal provenant de Mourmansk ; elle n'avaient plus l'éclat naturel du poisson vivant et il était évident qu'une partie du pigment s'était déjà oxydée. Après avoir traité les nageoires à l'alcool à 96 p. 100 une partie du pigment est passée en solution tandis que se formaient des gouttes rouges de nature phosphatidique, insolubles dans l'alcool mais facilement solubles dans l'éther de pétrole. Tout le pigment dissout dans l'éther de pétrole s'est avéré être épiphasique. Une fois saponifié le colorant devient entièrement hypophasique.

Après addition d'acide acétique le pigment passe dans l'éther de pétrole. Nous n'avons pas réussi à l'obtenir à l'état cristallisé ; mais son spectre d'absorption (500 m μ dans la pyridine) et ses solubilités ne laissent pas douter qu'il ne s'agisse de l'astacine.

4. *Perca fluviatilis* (Perche).

Les nageoires de ce poisson sont colorées en rouge vif, le reste de la peau ne présente pas cette coloration. Dans deux essais faits avec des animaux provenant du Golfe de Finlande nous avons isolé des pigments différents. Dans un cas c'était un ester épiphasique de l'astacine, dans l'autre le pigment principal était un ester d'une xanthophylle très proche de la taraxanthine. Il est possible que nous ayons eu à faire à deux variétés de ce poisson puisque BERG souligne l'existence d'un grand nombre de variétés de *Perca fluviatilis*.

PREMIER ESSAI. — Nous avons traité 3 fois par l'acétone 13 g. de nageoires provenant de 15 animaux pesant 1,5 kg.. Tout le pigment semble fixé à la superficie des nageoires et passe rapidement en solution en donnant une couleur rouge brique.

Le pigment est entièrement épiphasique. Une fois saponifié il devient hypophasique et précipite après addition d'eau sous forme de flocons rouges. L'éther de pétrole se colore en jaune et contient 1,7 mg. de xanthophylles saponifiées. Après avoir filtré les flocons rouges nous les avons traité avec de l'acide acétique dilué ; l'astacine cristallise alors sous forme d'aiguilles typiques (500 m μ dans la pyridine ; point de fusion 225°-230°, 2 mg.).

Dans la fraction des hydrocarbures se trouvaient deux pigments qui formaient sur la magnésie deux zones rouges foncées. Leur spectre d'absorption avait une seule bande (495 m μ dans l'éther de pétrole). C'étaient apparemment des esters d'astacine difficiles à saponifier. Il n'y avait pas de vrais hydrocarbures.

La fraction des xanthophylles saponifiées formait deux zones sur le carbonate de calcium. La zone supérieure était jaune et son spectre correspondait à celui de la taraxanthine (475.445 m μ dans l'éther de pétrole, pas de coloration bleue avec l'acide chlorhydrique dans l'éther). La deuxième zone présentait des bandes diffuses à 485 et 452 m μ dans l'éther de pétrole.

DEUXIÈME ESSAI. — Nous avons détaché les nageoires de 4 poissons pesant ensemble 500 g.. Après 3 extractions par l'acétone elles étaient entièrement décolorées et le solvant s'était coloré en rouge. Le pigment passe facilement dans l'éther de pétrole et est entièrement épi-

phasique. Après saponification et addition d'eau, presque tout le pigment passe dans l'alcool alcalin. 40 γ du pigment restent dans la fraction des hydrocarbures (bandes diffuses à 480,450 m μ dans l'éther de pétrole) et représentent probablement un mélange de carotène α et β .

Après addition d'eau à l'alcool alcalin qui contient la plus grande partie du pigment, presque tout le colorant passe dans l'éther de pétrole. Ceci montre l'absence d'astacine contrairement au premier essai. Nous avons lavé l'éther de pétrole à l'eau, l'avons séché avec du sulfate de sodium et adsorbé sur une colonne de carbonate de calcium.

Trois zones se sont formées :

- I. Jaune, 473,443 m μ dans l'éther de pétrole
502,470 m μ dans le sulfure de carbone
- II. Jaune, 495 m μ dans l'éther de pétrole
510 m μ dans le sulfure de carbone
- III. Rose, traces de pigment.

Le colorant de la première zone (300 γ) représentait la partie principale du pigment extrait des nageoires. Sa solution éthérée n'a pas donné de coloration bleue avec l'acide chlorhydrique concentré. D'après KUNN et LEDERER (3,6) la taraxanthine a trois bandes d'absorption à 501, 469, 441 m μ dans CS₂ et ne donne pas de coloration bleue avec l'acide chlorhydrique concentré, ce qui la distingue de la violaxanthine qui a le même spectre d'absorption. Comme pigment à 4 atomes d'oxygène elle est fortement adsorbée sur le carbonate de calcium. Récemment, HEX a décrit un nouveau pigment, l'élloxanthine C₄₀H₅₆O₃ isolé à partir d'*Elodea canadensis*, ayant le même spectre d'absorption que la taraxanthine et la violaxanthine et ne donnant pas de réaction bleue avec l'acide chlorhydrique concentré. Il nous semble possible que le pigment de la zone I soit identique à la taraxanthine ou à l'élloxanthine. Le pigment de la deuxième zone est resté inchangé après une deuxième saponification et n'a pas de caractère acide ; d'après son spectre (une seule bande d'absorption), l'absence d'acidité et son adsorbabilité il se rapproche de très près de la glycymérine (LEDERER, 1, FABRE et LEDERER, 2).

5. *Esox lucius* (Brochet).

Les nageoires des brochets étudiés étaient colorées en rouge ; leur pigment consiste en un mélange de deux xanthophylles très semblables à la taraxanthine et à l'élloxanthine.

ESSAIS. — Les nageoires de 3 poissons de 2 kg. chacun pesaient 170 g. Trois traitements successifs par l'alcool les ont décolorées. Le pigment passe facilement dans l'éther de pétrole et se trouve être entièrement épiphasique. Après saponification il passe presque entièrement dans l'alcool alcalin. L'éther de pétrole ne contient plus que quelques γ de carotène (483 m μ dans l'éther de pétrole). Après addition d'eau à l'alcool alcalin tout le pigment passe dans l'éther de pétrole ; (absence de pigments acides). Nous avons lavé à l'eau et séché par le sulfate de soude cette solution, puis l'avons filtré à travers une colonne de carbonate de calcium. 2 zones jaunes se sont formées : l'une sur la

partie supérieure de la colonne, l'autre au milieu. Le spectre d'adsorption des pigments de ces deux zones était le même (470, 442 m μ dans l'éther de pétrole et 501, 469 m μ dans le sulfure de carbone) il est identique au spectre d'absorption de la taraxanthine et de l'éloxanthine.

Il est possible que le pigment de la zone supérieure corresponde à la taraxanthine (4 atomes d'oxygène) et celui de la zone inférieure à l'éloxanthine (3 atomes d'oxygène).

6. *Lota lota* (Lotte).

La peau de ce poisson a des taches jaunâtres qui deviennent plus vives après la mort de l'animal.

Le pigment est un ester épiphasique d'une xanthophylle et se rapproche de très près de la taraxanthine ou de l'éloxanthine.

ESSAIS. -- Nous avons enlevé toute la peau d'un poisson de 1,5 kg.. Il a fallu la traiter 6 fois par de l'alcool à 96 p. 100 (400 cm³ à chaque fois) pour en extraire le pigment qui ne se dissout que lentement. Après addition d'eau le colorant passe entièrement dans l'éther de pétrole ; il est épiphasique. Une fois saponifiée la plus grande partie du pigment passe dans l'alcool alcalin. Dans l'éther de pétrole restent seulement 60 γ de carotène (483 m μ dans l'éther de pétrole).

L'alcool alcalin rend une partie de son pigment à l'éther de pétrole (300 γ). Une adsorption sur le carbonate de calcium nous a donné une seule zone homogène ayant les bandes d'absorption de la taraxanthine (471, 443 m μ dans l'éther de pétrole et 501,469 m μ dans le sulfure de carbone). Une solution étherée de ce pigment ne donne pas de coloration bleue avec l'acide chlorhydrique. Ce pigment semble donc être identique à la taraxanthine ou à l'éloxanthine. La dernière partie du pigment restée dans l'alcool alcalin n'est passée dans l'éther de pétrole qu'après acidification par l'acide acétique. Il nous a paru tout d'abord qu'il s'agissait d'un pigment acide, mais nous avons constaté ensuite que ce corps ne se distinguait en rien de la xanthophylle qui était passée dans l'éther de pétrole avant l'addition d'acide acétique. En travaillant sur la taraxanthine nous avions déjà remarqué un phénomène analogue : une partie du pigment était fortement retenu par l'alcali. Il est probable qu'un groupe carbonyle de la taraxanthine s'enolise sous l'action de l'alcali ce qui donne un corps acide.

7. *Eleginus navaga*.

Les ovaires de ce poisson sont jaune-oranges. Leur pigment est un mélange de carotène β et de trois xanthophylles ayant le même spectre d'absorption (487, 453 m μ dans l'éther de pétrole). C'est à peu de chose près le spectre de la cryptoxanthine et de la zéaxanthine (485, 454 m μ) mais ces xanthophylles sont adsorbées sur le carbonate de calcium en des zones jaunes tandis que les 3 xanthophylles de *Lota lota* forment des zones oranges assez foncées. Il s'agit probablement de pigments plus chargés d'oxygène.

EULER, GARD et HELLSTRÖM avaient déjà trouvé du carotène et

de la « xanthophylle » dans les œufs de *Lota vulgaris* et de *Esox lucius* ; (pour la bibliographie sur les caroténoïdes des œufs de poissons voir LEDERER, 11 et ZECHMEISTER, 4). Le foie de *Eleginus navaga* ne contient pas de caroténoïdes.

ESSAIS. — 5 poissons frigorifiés pesant 800 g. contenaient 160 g. d'ovaires. Le pigment passe dans l'acétone, puis, après addition d'eau, dans l'éther de pétrole. Une partie (300 γ) est soluble dans le méthanol à 90 p. 100 (xanthophylles libres). Il n'y avait pas de xanthophylles estérifiées.

La fraction des hydrocarbures (90 γ) a été adsorbée sur l'oxyde de magnésium en formant une zone qui avait le même spectre d'absorption que le carotène β (486, 454 m μ dans l'éther de pétrole).

Les xanthophylles de l'éther de pétrole ont été adsorbées sur du carbonate de calcium. 3 zones oranges se sont formées (487, 453 m μ dans l'éther de pétrole pour toutes les trois).

II. — Reptiles.

Les pigments de peaux de *Serpents* connus jusqu'ici ne sont pas des caroténoïdes (KRUKENBERG, CUNNINGHAM et MAC MUNN) ; chez les *Lézards* et les *Caméléons* au contraire, la peau est souvent colorée par des lipochromes que KRUKENBERG a étudié par voie spectroscopique.

Sur les caroténoïdes des *Tortues* nous n'avons que quelques indications de HALLIBURTON (1886) qui a constaté que le sérum et les graisses de la Tortue sont fortement pigmentées et contiennent une matière colorante ressemblant à une xanthophylle.

8. *Chrysemys scripta elegans*.

Nous avons étudié le pigment de la tache rouge située près de l'œil de la petite tortue japonaise *Chrysemys scripta elegans*. Il s'agit de carotène γ .

ESSAIS. — Les taches rouges une fois découpées cèdent leur colorant à l'acétone. Le pigment passe entièrement dans l'éther de pétrole : il est épiphasique, même après saponification et bien adsorbé sur l'oxyde d'aluminium en formant une zone homogène rouge-orange. Le pigment élué montre la solubilité et les bandes d'absorption du carotène γ (493, 462 m μ dans l'éther de pétrole). Les taches d'un animal ne contiennent que 1 γ de carotène γ ; l'intensité de la couleur rouge des taches semble être due à une adsorption, ce qui rend plus foncé le pigment.

La carapace du dos est colorée en jaune et cède une partie de son pigment à l'acétone. Le colorant est un hydrocarbure qui s'adsorbe sur de l'alumine en formant une zone jaune. L'éluat montre les bandes d'absorption du carotène α : 473, 444 m μ dans l'éther de pétrole (10 γ par animal).

Les viscères contiennent de la xanthophylle (478, 446 m μ) et du carotène α (473, 445 m μ dans l'éther de pétrole).

TROISIÈME PARTIE.

LES CAROTÉNOÏDES DES INVERTÉBRÉS.

S'il n'est pas difficile de détecter l'origine alimentaire des caroténoïdes chez les vertébrés, il est impossible de ne pas admettre l'origine synthétique de quelques caroténoïdes chez les invertébrés. Nous pensons surtout à l'astacine, si fréquente dans les animaux et les organes les plus divers, et à d'autres pigments encore trouvés chez les animaux seulement et jamais chez les plantes. Nous reviendrons plus tard en détail (p. 57) sur la question de l'origine de ces corps intéressants.

I. — Tuniciers.

Il ressort des observations spectroscopiques de KRUKENBERG et LÖNNBERG qu'on trouve chez de nombreuses espèces d'Ascidies des lipochromes jaunes, oranges et rouges. Aucun de ces pigments n'a été cependant obtenu à l'état pur ni identifié avec un pigment connu.

Nos recherches portent sur quatre espèces d'Ascidies représentant 3 types biologiques ; nous en avons obtenu des caroténoïdes cristallisés et différents suivant les espèces.

L'Ascidie sociale *Dendrodoa grossularia* (*Styelopsis grossularia*) contient un ester épiphasique de l'astacine à partir duquel l'astacine est facile à obtenir à l'état pur.

L'Ascidie solitaire *Halocynthia papillosa* (*Cynthia papillosa*) contient au contraire un ester hypophasique de l'astacine que nous avons fait cristalliser et qui est très probablement identique à l'« ovoester » de l'astacine trouvé par KUHN et LEDERER (7) dans les œufs et les ovaires du Homard (*Astacus gammarus*) et par KUHN, LEDERER et DEUTSCH dans les œufs de l'Araignée de mer (*Maja squinado*). La présence de cet ester est à noter car on ne l'avait pas jusqu'ici trouvé ailleurs que dans les œufs de Crustacés supérieurs (voir aussi FABRE et LEDERER). L'ester hypophasique de l'astacine est accompagné d'une xanthophylle qui se rapproche de très près de la zéaxanthine (517, 483, 452 m μ dans CS₂), mais qui en diffère par son adsorbabilité et son point de fusion (188°-190°). Nous appellerons cette xanthophylle *cynthiaxanthine*.

Des observations spectroscopiques de KARRER et SOLMSSEN confirment nos résultats sur *Halocynthia papillosa*.

Microcosmus sulcatus, un proche parent de *Halocynthia pa-*

pilosa contient un mélange de *xanthophylles* difficiles à identifier. Nous y relevons en particulier un pigment dont le spectre d'absorption rappelle la lutéine mais qui donne avec l'acide chlorhydrique une forte coloration bleue.

L'*Ascidie* composée *Botryllus Schlosseri* contient également un mélange très complexe de *xanthophylles*. Après plusieurs fractionnements par adsorption chromatographique nous y avons identifié la *pectenoxanthine* ($C_{40}H_{56}O_3$ (voir p. 29), la *capsanthine* $C_{40}H_{58}O_3$ et la *capsorubine*, $C_{40}H_{58}O_4$ (voir ZECHMEISTER et CHOLNOKY). Ces trois pigments sont accompagnés de plusieurs isomères formant des zones au dessus et au dessous des zones d'adsorption des pigments principaux. Nous avons attribué la présence des deux colorants du piment rouge (capsanthine et capsorubine) au fait que les animaux avaient été pêchés en octobre dans la rade de Toulon où sont jetés des déchets alimentaires contenant des restes de piments.

Récemment HEILBRONN et PHIPERS ont avancé une autre explication de notre observation. D'après eux la constitution de la fucoxanthine, pigment des algues brunes, se rapproche de celle de la capsorubine et ne serait rien d'autre qu'une dihydroxycapsorubine. La capsorubine et la capsanthine trouvées dans *Botryllus* pourraient alors dériver de la fucoxanthine des algues par oxydation.

Les fractions des hydrocarbures des quatre *Ascidies* sont quantitativement insignifiantes.

9. *Dendrodoa grossularia* VAN BENEDEN (*Styelopsis grossularia*).

ESSAIS. — Nous avons à notre disposition 440 g. de cette *Ascidie* violet-rose provenant de Roscoff. Nous les avons hâché et avons centrifugé la bouillie. Nous avons lavé le résidu avec de l'eau et avons obtenu 400 cm³ d'un liquide brun-rouge. C'est une solution colloïdale de protéines que l'on peut faire coaguler par addition d'acétone. Nous avons traité trois fois le précipité par l'acétone et avons agité avec de l'éther de pétrole l'extrait dilué d'eau. Les caroténoïdes passent dans ce dernier solvant tandis que l'acétone aqueuse reste colorée en rouge par un pigment qui vire au jaune par addition d'acides dilués et qui précipite en flocons violets par addition d'alcali dilué.

La plus grande partie du pigment passé dans l'éther de pétrole est soluble dans le méthanol à 90 p. 100 ; c'est un ester hypophasique de l'astacine (2 mg. environ) qui est lié aux protéines du suc cellulaire.

Le résidu obtenu après séparation des 400 cm³ de liquide cellulaire contient la plus grande partie du pigment. Nous l'avons épuisé par plusieurs extractions avec de l'acétone. Le solvant se colore en brun très foncé et laisse déposer à la glacière une huile rouge. Nous avons dissout cette huile dans l'éther de pétrole ; son pigment est entièrement épiphasique. Après saponification, la plus grande partie du colorant passe dans l'alcool alcalin, tandis que 300 γ d'hydrocarbures res-

lent dans l'éther de pétrole. L'alcool alcalin additionné d'éther de pétrole et acidifié par l'acide acétique dilué laisse déposer des cristaux violets d'astacine.

La solution acétonique séparée de l'huile rouge prend une couleur verdâtre ; des flocons verts précipitent après addition d'eau et d'éther de pétrole ; ce sont des chlorophyllines (672, 634, 560, 520, 490 μ dans l'éther). L'éther de pétrole a absorbé un pigment hypophasique (2 mg.) qui est bien adsorbé sur du carbonate de calcium en formant trois zones rouges foncées ; ce sont apparemment différents esters hypophasiques de l'astacine (485 μ dans l'alcool).

Après une première saponification par la potasse alcoolique, l'éther de pétrole contient encore des esters d'astacine qu'il est très difficile de saponifier. Même après trois saponifications successives, l'hydrolyse n'est pas complète. En filtrant l'éther de pétrole sur de la chaux nous y avons observé la formation des zones suivantes :

- 1 violette, spectre d'absorption imprécis.
 - 2 violette, une bande à 490 μ : ester d'astacine.
 - 3 jaune, bandes très précises à 468, 438 μ (dans l'éther de pétrole).
 - 4 violette, spectre imprécis 487, 457 μ (dans l'éther de pétrole).
 - 5 jaune-orange, 483, 451 μ : carotène β (150 γ).
- Filtrat jaune, 476, 445 μ : carotène α (70 γ).

Le pigment de la zone jaune 3 paraissait intéressant mais la quantité obtenue (30 γ environ) était trop petite pour en permettre une étude plus détaillée.

Pour la préparation de l'astacine à partir de l'Ascidie on peut suivre une méthode plus simple : épuisement des animaux par l'acétone, partage avec l'éther de pétrole et saponification. On obtient ainsi une solution alcoolique alcaline qui donne des cristaux d'astacine après addition d'éther de pétrole et acidification avec l'acide acétique dilué. En recristallisant deux fois à partir de la pyridine diluée d'eau nous avons obtenu 7 mg. d'astacine fondant à 230°. La teneur en astacine des 440 g. d'animaux étaient d'environ 15 à 20 mg.

10. *Halocynthia papillosa* (Cynthia papillosa).

ESSAIS. — Nous avons à notre disposition 15 animaux provenant de Monaco et pesant ensemble 120 g. La tunique de cette Ascidie solitaire est rouge foncée, les organes intérieurs sont plutôt orangés. Une étude préliminaire ayant montré que le pigment de la tunique et des organes intérieurs était à peu près le même, nous avons coupé en morceaux les animaux entiers et en avons extrait le pigment par l'acétone. De là nous l'avons fait passer dans l'éther de pétrole par addition de beaucoup d'eau. La plus grande partie du pigment est hypophasique et passe dans le méthanol à 90 p. 100. C'est la fraction des « xanthophylles libres ». Après le partage avec le méthanol, l'éther de pétrole est encore coloré ; après deux saponifications, de petites quantités d'astacine accompagnées d'autres pigments brunâtres et mal définis passent dans l'alcool alcalin. Nous avons adsorbé sur la chaux la fraction des « hydrocarbures » restée dans l'éther de pétrole. Il s'est formé deux zones, dont l'une contenait un ester d'astacine non encore saponifié et l'autre du carotène β

485, 453 m μ dans l'éther de pétrole, 20 γ) ; le filtrat était coloré en jaune et contenait du carotène α (478, 448 m μ dans l'éther de pétrole, 100 γ).

Nous avons repris par le benzène la fraction des « xanthophylles libres » et l'avons filtré sur du carbonate de calcium. Après lavage par le benzène on observe deux zones principales au dessous de deux ou trois zones mal définies. La première des deux zones est rouge foncée, la seconde immédiatement en dessous de la première est jaune. Après séparation mécanique des deux zones nous avons élué avec du méthanol, avons repris les pigments par le benzène et avons répété l'adsorption.

Nous avons élué le colorant de la zone rouge par le méthanol et avons concentré cette solution dans le vide à 10 cm³. Après addition d'eau et d'éther de pétrole nous avons obtenu 4 mg. de cristaux bleu-violet à reflets métalliques ; nous les avons recristallisé à partir de la pyridine diluée d'eau et avons obtenu des prismes rhomboédriques fondant à 228-230° ; (une bande d'adsorption avec maximum à 500 m μ dans la pyridine). Il s'agit d'un *ester hypophasique de l'astacine* ; après saponification nous en avons préparé des cristaux caractéristiques d'astacine fondant à 228°. Afin de comparer notre pigment avec l'ovoester du Homard nous avons fait des adsorptions sur trois tubes de carbonate de calcium : le premier pour le pigment de l'Ascidie, le deuxième pour l'ovoester du Homard et le troisième pour un mélange par parties égales des deux pigments. Comme dans les trois tubes, les zones étaient homogènes et présentaient les mêmes caractères, nous pensons que l'ester d'astacine de Halocynthia est identique à l'ovoester du Homard.

Le pigment de la zone jaune représente une nouvelle xanthophylle pour laquelle nous proposons le nom de cynthiaxanthine.

CYNTHIAXANTHINE.

Nous avons concentré à quelques cm³ le méthanol avec lequel nous avons élué la zone jaune ; après addition d'eau et d'éther de pétrole la cynthiaxanthine cristallise sous forme de petites aiguilles jaune-oranges ; elles fondent à 188°-190° après recristallisation à partir d'alcool dilué d'eau (1 mg.). Le spectre d'absorption de ce pigment montre trois bandes dont les axes sont situés à 517, 483, 451 m μ dans le CS₂ et à 482, 452 m μ dans l'éther de pétrole et le méthanol. Une solution éthérée de ces cristaux ne donne pas de coloration bleue avec l'acide chlorhydrique concentré.

Par toutes ces propriétés la cynthiaxanthine se rapproche de très près de la zéaxanthine et une comparaison très exacte s'est imposé pour prouver la non-identité de ces deux pigments. Dans ce but nous avons fait des adsorptions sur trois tubes de carbonate de calcium : le premier pour la cynthiaxanthine, le deuxième pour la zéaxanthine et le troisième pour un mélange par parties égales des deux pigments. Les pigments étaient dissous dans le benzène ; après lavage des colonnes par ce solvant nous avons constaté les

différences suivantes. La zéaxanthine forme une zone jaune diffuse sur la partie supérieure de la colonne ; le lavage la fait s'étaler un peu sans que la zone se sépare du bord supérieur de la colonne. La cynthiaxanthine forme une zone diffuse moins jaune, que le lavage fait s'éloigner du bord supérieur de la colonne. Dans le tube contenant le mélange des deux pigments le bord supérieur de la colonne est resté coloré après le lavage et la teinte de la partie supérieure de la zone colorée était nettement plus jaune. Nous en déduisons que les deux pigments sont différents et que la cynthiaxanthine est un peu moins bien adsorbée que la zéaxanthine.

La cynthiaxanthine a le même spectre d'absorption que la pectenoxanthine ; elle en diffère cependant par sa manière d'être adsorbée, puisque la pectenoxanthine forme une zone rouge au-dessus de celle de la zéaxanthine.

11. *Microcosmus sulcatus* (« Violet »).

ESSAIS. — Nous avons à notre disposition 80 spécimens achetés en Décembre au marché à Paris et provenant de la Méditerranée. La tunique de ces animaux est violacée, mais ne paraît pas contenir des caroténoïdes. L'ensemble des organes est jaune-orange. Quand on fait bouillir les animaux pendant quelques minutes on peut facilement retirer tout le contenu de la tunique d'un seul coup. Nous avons haché le matériel à étudier et obtenu ainsi 160 g. d'une purée jaune-orange que nous avons épuisé 4 fois par l'acétone. Le résidu garde encore une teinte jaune-claire, qui ne se décolore pas par traitement avec des solvants organiques ou avec de l'eau acidulée.

Nous avons concentré les extraits acétoniques et avons fait passer tout le pigment dans l'éther de pétrole. La plus grande partie du pigment passe alors dans le méthanol à 90 p. 100 (xanthophylles libres, 9 mg.). Après saponification une autre partie du pigment épiphasique passe dans l'alcool alcalin (2 mg.). Dans l'éther de pétrole restent 1,2 mg. de pigment (hydrocarbures) adsorbés sur de l'oxyde de magnésium en deux zones. La première, rouge orange, contient un pigment à une bande d'absorption (486 m μ dans CS₂) et rappelle l'échinénone et la myxoxanthine (voir p. 43) ; la deuxième, jaune, contient un pigment dont le spectre d'absorption se rapproche de celui du carotène α (508, 476 m μ dans CS₂).

La fraction des *xanthophylles* libres additionnée d'eau et d'éther de pétrole donne à la glacière des cristaux à reflets métalliques (1 mg.). Sous le microscope on voit de longs prismes filiformes de couleur jaune. Ces cristaux ne sont pas homogènes. Leur solution dans un mélange de benzène et d'éther de pétrole donne sur le carbonate de calcium les trois zones suivantes :

1 jaune, 482, 451 m μ dans CS ₂	100 γ
2 rose, 480, 446 m μ dans CS ₂	500 γ
3 jaune orange, 482, 448 m μ dans CS ₂	800 γ

Après élution le pigment de la troisième zone donne facilement des cristaux que nous n'avons pas pu identifier ; leur solution éthérée ne

donne pas de coloration avec l'acide chlorhydrique ; nous pensons qu'il s'agit ou de zéaxanthine ou de cynthiaxanthine.

L'eau mère des cristaux non homogènes, adsorbée sur de la magnésie donne également trois zones, mais différentes des premières.

N°	Couleur	Dans l'éther de p.	Première bande dans CS ₂	Avec HCl	Quantité
1.	vert-brun	—	—	—	—
2.	jaune-brun	480,447 mμ	506 mμ	bleu foncé	5 mg.
3.	rouge foncé	477,444 mμ	505 mμ	incolore	2 mg

Les pigments des zones 2 et 3 sont assez curieux. Le premier a le spectre d'absorption de la lutéine, mais moins net, s'adsorbe en une zone très diffuse et sa solution éthérée donne une forte coloration bleue avec l'acide chlorhydrique concentré. Le deuxième, dont le spectre d'absorption est à peu près le même, donne une zone rouge foncée très nette et ne réagit pas avec l'acide chlorhydrique.

La fraction des *esters de xanthophylles* saponifiée laisse déposer après addition d'eau des flocons oranges amorphes. Nous y avons ajouté de l'acide acétique dilué ; toute la solution a pris alors une couleur vert-foncée. Ceci est caractéristique pour la fucoxanthine et ses isomères ayant subi l'action d'alcali (voir p. 50).

12. *Botryllus Schlosseri* PALLAS.

ESSAIS. - Nous avons 180 g. de cette Ascidie composée, pêchée en rade de Toulon. Une petite partie du pigment des colonies brunes est soluble dans l'eau sous forme d'un chromoprotéide orange ; l'acétone décompose ce complexe. Nous avons hâché les animaux et les avons traité à plusieurs reprises par l'acétone qui se colore en brun-rouge. En ajoutant beaucoup d'eau on peut faire passer le pigment dans l'éther de pétrole. La plus grande partie du colorant est hypophasique et passe dans le méthanol à 90 p. 100.

Les hydrocarbures (800 γ environ) restés dans l'éther de pétrole peuvent être fractionnés par adsorption sur de l'alumine. Il se forme deux zones, l'une, violette et contenant du lycopène (ou un de ses oxydes ; voir ZECHMEISTER et CHOLNOKY (3) ; 547, 505 mμ dans CS₂ et 503, 470 mμ dans l'éther de pétrole), l'autre, jaune-orange et contenant du carotène β (484, 454 mμ dans l'éther de pétrole).

La fraction des xanthophylles est beaucoup plus complexe. Pour la séparer en ses composants nous avons concentré le méthanol et y avons ajouté de l'eau et de l'éther de pétrole. Après un court séjour à la glacière des amas hérissés d'aiguilles se sont formés ; ces cristaux rappellent les préparations du colorant du piment (capsanthine + capsorubine) photographiés par ZECHMEISTER (1). Comme la solution éthérée de nos cristaux donnait aussi la réaction bleue avec l'acide chlorhydrique concentré et comme le spectre d'absorption (540, 500

m μ dans CS₂) était identique à celui de la capsanthine, une comparaison exacte s'imposait.

Nous avons dissout les cristaux dans le benzène et avons filtré leur solution sur du carbonate de calcium. Deux zones violettes se sont formées sur la partie supérieure de la colonne ; les deux pigments ainsi séparés montrent le même spectre d'absorption (I : 539, 501 m μ dans CS₂, 1 mg. ; II : 540, 500 m μ , 3 mg.,5) et donnent tous les deux la coloration bleue avec l'acide chlorhydrique concentré. La zone I nous a paru correspondre à la capsorubine de ZECHMEISTER et CHOLNOKY et la zone II à la capsanthine. Nous avons alors préparé ces deux colorants à partir du piment rouge en les faisant d'abord cristalliser ensemble et en les séparant ensuite par des adsorptions sur du carbonate de calcium.

La comparaison des 2 fractions de xanthophylles de *Botryllus* avec les deux pigments du piment a été faite d'après la méthode des trois tubes, décrite plus haut (voir p. 9). La comparaison ne nous a pas donné un résultat tout à fait net, car les deux fractions de *Botryllus* n'étaient pas encore homogènes, même après plusieurs adsorptions. Elles paraissent consister en un certain nombre d'isomères, difficilement séparables ; malgré ce fait nous pouvons dire que les majeures parties des deux fractions correspondent entièrement à la capsorubine et à la capsanthine. Les spectres d'adsorption, les solubilités et les colorations avec l'acide chlorhydrique en sont aussi respectivement identiques.

L'éther de pétrole recouvrant l'alcool dilué à partir duquel les cristaux s'étaient formés, était encore coloré en jaune et contenait environ 3 mg. de xanthophylles. Par adsorption sur du carbonate de calcium nous avons obtenu deux zones rouges. La première zone est, d'après une comparaison exacte sur trois tubes, identique à la pectenoxanthine (482,449 m μ dans l'éther de pétrole) (voir p. 29). La deuxième zone contient un pigment encore inconnu (478,448 m μ dans l'éther de pétrole) mais qui pourrait avoir les mêmes rapports avec la lutéine que la pectenoxanthine avec la zéaxanthine.

En travaillant une deuxième fois sur 80 g. de *Botryllus* de la même provenance nous n'y avons trouvé ni capsorubine ni capsanthine, mais un mélange très complexe de xanthophylles, que nous n'avons pas pu séparer.

II. — Mollusques.

Les caroténoïdes des Mollusques ont été très peu étudiés jusqu'ici. KRUKENBERG ainsi que MAC MUNN ont trouvé un lipochrome à deux bandes d'absorption dans le foie de *Helix pomatia* à côté d'un pigment apparenté à la chlorophylle et appelé hépatochlorophylle ou enterochlorophylle. DHÉRE et VEGEZZI se sont de nouveau occupés de ces pigments en employant l'adsorption chromatographique. D'après ces auteurs l'hépatochlorophylle est un mélange de dérivés des chlorophylles, de carotène et de xanthophylle.

LÖNNBERG (3, 8) a effectué des mesures des spectres d'absorption des lipochromes d'une cinquantaine d'espèces de Mol-

lusques. Cet auteur a surtout observé des pigments ayant plusieurs bandes d'absorption et appartenant aux xanthophylles.

Nous avons pu montrer que les *organes sexuels* de quelques Coquillages sont colorés par des caroténoïdes différents de ceux connus jusqu'ici.

Ainsi nous avons trouvé un pigment orange à une seule bande d'absorption dans la glande sexuelle du Pétoncle (*Pectunculus glycymeris*) ; nous avons appelé ce pigment *glycymérine* (LEDERER, FABRE et LEDERER, 2). La glycymérine diffère de l'astacine par le manque d'acidité et se rapproche ainsi des xanthophylles.

Les animaux dans lesquels nous avons trouvé la glycymérine avaient été pêchés en juin 1933. Au cours de l'hiver 1934 nous avons acheté au marché pendant quelques semaines 625 pétoncles dont les glandes sexuelles (les « pieds ») étaient colorées en rouge-brique, tandis que nos premiers animaux avaient une coloration plutôt rose. Nous en avons obtenu des cristaux de pigment ; mais en les fractionnant par adsorption nous n'y avons pas trouvé de glycymérine, mais un mélange de pigments. Nous ne savons pas comment expliquer ce fait ; peut-être avons-nous travaillé sur deux variétés différentes, peut-être la saison joue-t-elle un rôle dans la nature du pigment des glandes sexuelles.

Les glandes sexuelles de la *Coquille St-Jacques* (*Pecten maximus*) que l'on appelle à cause de leur forme « bosse de polichinelle », se colorent au printemps en un rose ou rouge-brique suivant la concentration en pigment. La teneur en lipochrome dépend beaucoup de la saison. Les gonades d'une coquille contiennent en octobre de 2 à 5 γ de caroténoïdes, tandis qu'en avril leur teneur s'élève à 300 γ environ. Les « bosses » doivent leur couleur à un mélange de xanthophylles non estérifiées et qui montrent trois bandes d'absorption. Nous avons d'abord obtenu à l'état cristallisé le mélange de pigments et ensuite purifié par adsorption le pigment principal, que nous appelons *pectenoxanthine*. Le même mélange de xanthophylles colore des parties du manteau des coquilles.

KARRER et SOLMSEN ont confirmé nos observations par des mesures spectroscopiques sur les gonades de *Pecten jacobaeus*.

EULER, HELLSTRÖM et KLUSSMANN ont trouvé un pigment rappelant la pectenoxanthine (485,453 m μ dans l'alcool) dans les gonades de *Volvella modiolus*. Le pigment y est en partie lié à des protides.

Depuis, SOERENSEN (4) a isolé de l'astacine cristallisée à partir des « pieds » de *Lima excavata*.

13. *Pectunculus glycymeris* (Pétoncle).

ESSAIS. - Nous avons travaillé sur 625 animaux que nous avons acheté et traité en 3 charges. Nous avons découpé et hâché les

glandes sexuelles ; l'acétone en extrait facilement tout le pigment. Par addition d'eau nous l'avons fait passer dans l'éther de pétrole et avons ensuite concentré cette solution à 10 cm³ par charge. En gardant le liquide à la glacière pendant plusieurs semaines dans des tubes scellés nous y avons observé la formation de cristaux de couleur rouge-saumon. Après avoir ouvert les tubes nous avons redissout les cristaux dans l'éther de pétrole et avons agité cette solution avec du méthanol à 90 p. 100. Le pigment est presque entièrement hypophasique. Nous avons saponifié la solution alcoolique et avons ajouté de l'eau et de l'éther de pétrole. Le colorant ne passe pas dans ce dernier solvant. En acidifiant avec de l'acide acétique une masse rouge amorphe précipite ; nous l'avons repris par le benzène, avons lavé cette solution avec une solution aqueuse de carbonate de sodium et l'avons séché avec du sulfate de sodium. Puis nous l'avons filtré sur du carbonate de calcium. Trois zones se forment.

N°	Couleur	Largeur	Spectre d'absorption
1	Orange, imprécis.	2 mm.	479 458 mμ
2	Rouge, imprécis.	12 mm.	483 451 mμ
3	Jaune-orange, précis.	3 mm.	483 451 mμ

Nous ne sommes pas arrivés à faire cristalliser le pigment principal (zone 2). Nous avons comparé les bandes d'absorption du pigment de la zone 3 avec ceux de la lutéine et de la cynthiaxanthine. Il paraît s'agir d'une xanthophylle encore inconnue.

Lutéine	474, 446 mμ dans l'éther de pétrole
Zone 3	478, 445 mμ dans l'éther de pétrole
Cynthiaxanthine.....	482, 447 mμ dans l'éther de pétrole

Rappelons que nous n'avons pas pu fractionner la glycymérine par adsorption. Elle a été adsorbée sur du carbonate de calcium sous forme d'une zone jaune-orange homogène.

14. *Pecten maximus* (Coquille St-Jacques).

ESSAIS. — Nous avons hâché 500 organes génitaux de Coquilles St-Jacques et traité la purée rouge ainsi obtenue par de l'acétone. Le solvant se colore en rouge-orange et cède son pigment après addition d'eau, à l'éther de pétrole. Nous avons lavé ce solvant avec de l'eau et l'avons agité plusieurs fois avec du méthanol à 90 p. 100 ; celui-ci se colore en rouge foncé et absorbe la plus grande partie du pigment. On peut même faire passer les xanthophylles dans le méthanol à 80 p. 100.

L'éther de pétrole reste coloré en jaune-orange par suite de la présence de petites quantités de xanthophylles estérifiées et de carotène β (484, 454 m μ dans l'éther de pétrole).

Nous avons ensuite concentré le méthanol dans le vide ; par addition d'éther de pétrole et d'un peu d'eau, la pectenoxanthine cristallise en aiguilles rouges enchevêtrées.

Les cristaux ainsi obtenus ne représentent pas encore un pigment homogène. Nous les avons dissout dans le benzène et avons fait une adsorption sur du carbonate de calcium. Il se forme une large zone rouge-carmin, bordée en haut par une mince zone orange et en bas par une zone jaune-clair. Le pigment de la zone principale que nous appelons « pectenoxanthine » a été élué avec du méthanol et obtenu à l'état pur par recristallisation du produit de premier jet à partir de la pyridine diluée d'eau. Les 500 organes génitaux ont ainsi fourni 50 mg. de pectenoxanthine pure.

PECTENOXANTHINE.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES. — La pectenoxanthine cristallise à partir d'une solution dans la pyridine diluée d'eau sous forme de longs prismes droits, colorés en brun-jaune, coupés obliquement aux bouts et ayant une extinction droite. Ils forment un amas de couleur rouge-violette et fondent à 182° (en tube scellé). Ils restent stables à l'air pendant plusieurs semaines (voir fig. 1).



Fig. 1. Cristaux de pectenoxanthine ; lumière polarisée (aggr. 150 $\times$).

La pectenoxanthine est facilement soluble dans le méthanol, le benzène, le sulfure de carbone et dans la pyridine ; les cristaux sont très peu solubles dans l'éther de pétrole. Les solutions de la pectenoxanthine dans le sulfure de carbone sont de couleur rouge-saumon, celles dans la pyridine sont rouges. Le spec-

tre d'absorption de la pectenoxanthine montre trois bandes dont la troisième n'est que peu marquée (fig. 2).

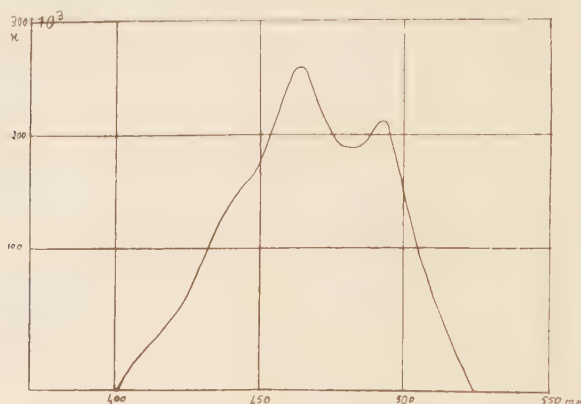


FIG. 2. — Spectre d'absorption de la pectenoxanthine dans le benzène.

Sulfure de carbone	518, 486, 452 mμ
Benzène	496, 464, 434 mμ
Ether de pétrole	487, 557 — mμ

Les pigments accompagnant la pectenoxanthine se trouvent en petite quantité seulement ; il est facile de les obtenir à l'état cristallisé, mais le manque de matériel ne nous a pas permis de les étudier de près. Ils montrent le même spectre d'absorption que la pectenoxanthine (517, 483 mμ dans CS₂). En hiver la pectenoxanthine est accompagnée de plusieurs autres pigments en quantité relativement plus grande. Par adsorption nous avons pu distinguer 6 zones différentes.

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES. — D'après son spectre d'absorption et d'après sa solubilité la pectenoxanthine se rapproche d'assez près de la zéaxanthine C₄₀H₅₆O₂. Nous avons comparé ces deux pigments en faisant des adsorptions sur 3 tubes. La pectenoxanthine dissoute dans l'éther de pétrole est adsorbée sur du carbonate de calcium en une zone rouge bien distincte, tandis que la zéaxanthine forme une zone jaune diffuse et moins bien adsorbée. Le tube contenant le mélange des deux pigments montrait 2 zones très nettes : l'une, rouge-orangée et correspondant évidemment à la pectenoxanthine, l'autre, immédiatement en dessous, jaune et correspondant à la zéaxanthine.

L'adsorbabilité plus forte de la pectenoxanthine indique déjà que ce pigment contient plus d'oxygène que la zéaxanthine. Les analyses confirment cette supposition et donnent comme formule de ce caroténoïde C₄₀H₅₄O₃ ± H₂.

2 mg.,858 de substance donnent 2 mg.,28 de H_2O , 8 mg.,63 de CO_2
 2 mg.,884 de substance donnent 2 mg.,33 de H_2O , 8 mg.,76 de CO_2
 Trouvé 8,93 p. 100, 9,04 p. 100 de H et 82,35 p. 100 de C, 82,84 p. 100 de C
 Calculé pour $C_{40}H_{52}O_3$ 9,04 p. 100 de H, 82,69 p. 100 de C
 Calculé pour $C_{40}H_{54}O_3$ 9,35 p. 100 de H, 82,40 p. 100 de C
 Calculé pour $C_{40}H_{56}O_3$ 9,68 p. 100 de H, 82,09 p. 100 de C

Une xanthophylle de formule $C_{40}H_{56}O_3$ a été trouvée par KUHN et BROCKMANN dans une espèce de bouton d'or (*Ranunculus acer*). Ce pigment, la flavoxanthine diffère de la pectenoxanthine par sa couleur beaucoup plus claire (478, 447,5 429 m μ dans CS_2).

Après la publication de nos deux communications préliminaires concernant la pectenoxanthine (LEDERER, 5, 6) deux nouvelles xanthophylles à trois atomes d'oxygène ont été décrites. La première, l'anthéroxanthine, a été trouvée par KARRER et OSWALD dans les étamines de *Lilium tigrinum*. La deuxième, la pétaloxanthine, a été isolée par ZECHMEISTER, BERES et UJHELYI des pétales de *Cucurbita pepo*. La formule de ces deux pigments ($C_{40}H_{58}O_3$ ou $C_{40}H_{56}O_3$) et leurs spectres d'absorption et points de fusion ne diffèrent que peu de ceux de la pectenoxanthine comme le montre le tableau suivant :

Nom	Spectre d'absorption dans CS_2			Point de fusion
Pectenoxanthine.....	518	486	452 m μ	182°
Zéaxanthine.....	517	482	450 m μ	217°
Pétaloxanthine.....	514,5	481	— m μ	202°
Anthéroxanthine.....	512,5	482	448 m μ	207°

D'après KARRER et OSWALD l'anthéroxanthine forme sur la chaux une zone jaune (solvant benzène) ; elle se distingue ainsi de la pectenoxanthine qui forme dans les mêmes conditions une zone rouge.

D'après ZECHMEISTER, BERES et UJHELYI la pétaloxanthine, dans le sulfure de carbone, est adsorbée sur le carbonate de calcium sous forme d'une zone rouge. Une comparaison avec la pectenoxanthine est difficile puisque solvants et adsorbants sont ici différents ; mais la différence des spectres d'absorption permet déjà de conclure à la non-identité des deux corps.

Anthéroxanthine et pétaloxanthine diffèrent aussi de la pectenoxanthine par le fait qu'elles donnent en solution éthérée une coloration bleue (assez faible) avec l'acide chlorhydrique à 37 p. 100.

Récemment HEY a encore isolé une xanthophylle à trois atomes d'oxygène, l'éloxanthine $C_{40}H_{56}O_3$, mais ce pigment est beaucoup plus clair que les corps ci-dessus, et montre le spectre d'absorption de la taraxanthine et de la violaxanthine (501, 470 m μ dans CS_2).

La pectenoxanthine est donc différente de toutes les xanthophylles décrites jusqu'ici.

Au cours d'une hydrogénation catalytique d'après la micro-méthode de KUHN et MOELLER, la pectenoxanthine a absorbé 10,53 molécules d'hydrogène (fig. 3). Remarquons que la zéaxanthine est décolorée après absorption de 7 molécules d'hydrogène, et la pectenoxanthine seulement après absorption de 9 molécules d'hydrogène. Les systèmes insaturés des deux pigments semblent donc être nettement différents.

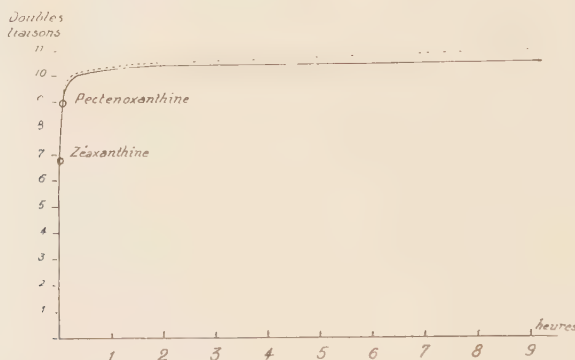


FIG. 3. — Hydrogénation catalytique de la pectenoxanthine (—) et de la zéaxanthine (---). A O décoloration.

Quand on traite la pectenoxanthine par le réactif de GRIGNARD (méthode de TCHOUGAIEV-ZÉRÉVITINOV, adaptée pour la micro-analyse, par ROTH) deux molécules de méthane se forment ; ceci indique donc la présence de deux groupes hydroxyles.

Il est vrai que des caroténoïdes à groupements cétoniques réagissent parfois avec le réactif de GRIGNARD ; ceci a été observé pour la rhodoxanthine (deux groupes CO, formation d'une molécule de méthane) (KUHN et BROCKMANN) et pour l'astacine (quatre groupements cétoniques, formation de deux molécules de méthane) (KARRER et LOEWE) ; cependant il s'agit dans le cas de la rhodoxanthine de deux groupes CO en conjugaison avec le système de doubles liaisons, et pour l'astacine de deux groupes CO facilement énolisables et montrant des propriétés acides. Ces deux possibilités peuvent être exclues pour la pectenoxanthine puisque ce pigment ne montre pas de différence entre les spectres d'absorption de ses solutions dans l'alcool et dans l'éther de pétrole (pas de groupe CO en conjugaison avec le système insaturé) et qu'elle n'a pas de caractère acide.

Quand on dissout la pectenoxanthine dans le méthanol légèrement alcalin on peut faire passer le pigment par addition d'eau dans l'éther de pétrole même après une demi-heure. Ceci indique l'absence de caractère acide. Cependant une action plus

prolongée ou plus intense d'alcali semble détruire ou modifier la pectenoxanthine. Il se forme alors des masses amorphes ayant un caractère acide. Cette instabilité pourrait être due à la présence d'un *groupement cétonique*, énolisable par une forte action d'alcali.

La pectenoxanthine se rapproche dans son comportement envers le réactif de GRIGNARD, de la taraxanthine et de la violaxanthine, xanthophylles à 4 atomes d'oxygène qui donnent seulement trois molécules de méthane. (Voir aussi la pentaxanthine et la fucoxanthine, p. 60).

Des recherches sur la nature du quatrième atome d'oxygène de la violaxanthine et de la taraxanthine, pigments beaucoup plus faciles à obtenir en grandes quantités que la pectenoxanthine, pourraient également apporter des précisions sur le troisième atome d'oxygène de la pectenoxanthine.

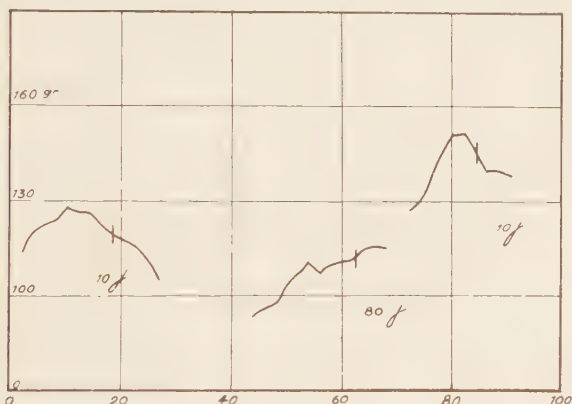


FIG. 4. — Essais biologiques avec la pectenoxanthine.

M. Th. MOORE de Cambridge a eu l'amabilité d'essayer la pectenoxanthine au point de vue de son activité comme provitamine A. Le résultat de ses essais nous permet d'affirmer que notre pigment (même en doses quotidiennes de 80 γ) n'agit pas comme provitamine A chez le Rat (voir fig. 4). Comme toutes les provitamines A contiennent au moins un anneau d'ionone non chargé d'oxygène, nous pouvons dire que les deux anneaux d'ionone de la pectenoxanthine seraient chargés d'oxygène. La pectenoxanthine contenant trois atomes d'oxygène, un des anneaux doit en porter un atome, et l'autre deux. Ces réflexions ne sont évidemment concluantes que si la pectenoxanthine contient vraiment deux anneaux de ionone, ce qui reste encore à prouver.

III. — Arthropodes.

a) INSECTES.

Nos connaissances des caroténoïdes des Insectes sont très limitées et ne concernent qu'un très petit nombre d'espèces ; de plus très peu de travaux modernes sont consacrés aux lipochromes de ce vaste domaine.

Il nous a paru surtout intéressant d'étudier les pigments du tégument des Insectes, car ils sont caractéristiques pour l'espèce et il y a une certaine chance d'y trouver des pigments spécifiques.

Nous apportons ici des mises au point aux données sur les caroténoïdes du Coléoptère *Coccinella septempunctata* et de l'Hémiptère *Pyrrhocoris apterus* et nous décrivons les caroténoïdes de l'Orthoptère *Ædipoda miniata* qui n'avaient pas encore été étudiés.

15. *Coccinella septempunctata* (Coccinelle).

Les élytres de ce Coléoptère contiennent d'après ZOPF un lipochrome dont le spectre d'absorption dans l'éther montre une seule bande (515-480 m μ). Le même pigment que ZOPF a appelé mono-carotène ou lina-carotène (d'après *Lina populi* chez qui ce pigment se trouverait également), colore aussi les bords de l'abdomen. GRIFFITHS a nommé le pigment en question coléoptérine et a essayé de le purifier. D'après ses analyses d'une préparation amorphe la formule en serait C₇H₅O₅N.

Nous avons trouvé que ce pigment n'est rien d'autre qu'un mélange de lycopène et de carotène ($\alpha + \beta$).

PALMER et KNIGHT avaient déjà trouvé le carotène dans la larve du Coléoptère *Leptinotarsa decemlineata* (Doryphore) ; ces auteurs ont montré que cet hydrocarbure provient de la nourriture des larves.

ESSAIS. - - Nous avons traité par l'alcool absolu les élytres brunes de 60 animaux (capturés en août dans le Massif Central et conservés à l'état sec). Le solvant se colore rapidement en jaune et cède son pigment à l'éther de pétrole ; si l'on traite les animaux entiers, l'alcool extrait en même temps un pigment rose qui ne passe pas dans l'éther de pétrole et vire au brun-vert par addition de soude.

Les caroténoïdes des élytres, solubles dans l'éther de pétrole sont entièrement épiphasiques et ne passent pas dans le méthanol à 90 p. 100. Après saponification une quantité minime de pigment passe dans la couche alcoolique alcaline (esters de xanthophylles saponifiés). Le pigment des élytres consiste donc essentiellement en hydrocarbures. Nous l'avons filtré sur une colonne d'alumine et l'avons ainsi séparé en trois fractions. La première, adsorbée sur la partie supé-

rieure de la colonne sous forme d'une zone jaune, représente probablement des produits de décomposition (spectre d'absorption : bandes imprécises à 483, 452 m μ ; il ne s'agit pas de cryptoxanthine, car le pigment est épiphasique même envers du méthanol à 95 p. 100) ; la deuxième fraction forme une zone violette dans la partie supérieure de la colonne, en dessous de la première ; elle montre le spectre d'absorption et les propriétés du lycopène (507, 479, 447 m μ dans l'éther de pétrole ; 547, 507 m μ dans CS₂). Peut être s'agit-il aussi d'un des pigments découverts par ZECHMEISTER et CHOLNOKY et ayant le même spectre d'absorption que le lycopène (oxy-lycopènes). La troisième fraction se trouve dans le filtrat de l'alumine et consiste en un mélange de carotène α et β (482,452 m μ dans l'éther de pétrole).

L'essai suivant montre qu'il est possible d'analyser de très petites quantités de caroténoïdes provenant d'un nombre d'insectes très réduit.

Nous avons traité par l'acétone les élytres de six Coccinelles trouvées sur des Roses d'Inde (*Tagetes grandiflora*) dans le Jardin du Luxembourg. Leur pigment est entièrement épiphasique, même après saponification ; par adsorption sur de l'alumine nous avons obtenu deux zones ; l'une, violette et contenant du lycopène (507,478 m μ dans l'éther de pétrole, 2,5 γ) l'autre, jaune et contenant du carotène (beaucoup de α avec peu de β , 479,448 m μ dans l'éther de pétrole, 3 γ).

Les corps des six animaux, débarrassés des élytres, ne contenaient que des traces d'esters de xanthophylles. La fraction des hydrocarbures, adsorbée sur de l'alumine γ forme deux zones, dont l'une violette, contient du carotène γ (495, 465 m μ dans l'éther de pétrole, 2,5 γ) et l'autre du carotène α avec peu de β (479,448 m μ , 5 γ). Il est remarquable que ces animaux, pris sur des fleurs colorées presque exclusivement par de la lutéine estérifiée, (KUHN, WINTERSTEIN et LEDERER) ne contiennent pas de xanthophylles ; un certain pouvoir de sélection s'y manifeste clairement. Ces six animaux ne contenaient pas le pigment rose, virant au vert-brun par addition de soude, mentionné plus haut.

16. *Pyrrhocoris apterus*.

D'après PHYSALIX le dos de cet Hémiptère (appelé vulgairement « soldat ») est coloré par un lipochrome dont le spectre d'absorption « est voisin de celui du carotène ».

Nous avons trouvé qu'il s'agit de lycopène.

ESSAIS. — Nous avons tué avec de l'essence 800 animaux (recueillis en avril en Touraine), les avons séchés à 37° et les avons broyés dans le sulfure de carbone. Le solvant se colore lentement en rose. L'extraction doit être répétée très souvent. Il est curieux de constater que l'on ne peut extraire le pigment qu'avec du CS₂ ; aucun autre solvant organique n'a fourni un extrait coloré. Nous avons ensuite évaporé à sec le CS₂ et avons repris le résidu par l'éther de pétrole ; le pigment est épiphasique. Après saponification une faible partie du pigment devient soluble dans le méthanol, mais nous n'y avons pas pu observer de spectre d'absorption.

La moitié seulement du pigment resté dans l'éther de pétrole est adsorbée sur de l'alumine en y formant une zone violette. Il s'agit de lycopène (506,478 $m\mu$ dans l'éther de pétrole), identique d'après le spectre d'adsorption et l'adsorbabilité au lycopène de la Tomate. La partie non adsorbée montrait également le spectre d'absorption du lycopène ; ce corps n'a pas non plus été retenu par une colonne d'alumine frais. Il s'agit apparemment d'un produit de décomposition du lycopène ou d'un corps inconnu.

17. *Oedipoda miniata*.

Les ailes de cet Orthoptère sont colorées en rouge vif ; les fémurs montrent des taches roses. Le pigment en question est un mélange de carotène β et d'une xanthophylle rappelant la capsanthine et la capsorubine par son spectre d'absorption mais qui n'est pourtant pas identique à un de ces deux pigments.

ESSAIS. — Nous avons extrait le pigment en gardant les ailes (de 40 animaux, recueillis en août dans le Massif Central) pendant plusieurs jours dans le méthanol à la glacière ; le solvant a été renouvelé tous les jours ; le pigment passe lentement en solution. Par addition d'eau et d'éther de pétrole on le fait passer dans ce dernier ; le pigment est entièrement épiphasique. Après saponification une partie du colorant passe dans l'alcool alcalin. La fraction des hydrocarbures restés dans l'éther de pétrole est formée par du carotène β (485,450 $m\mu$ dans l'éther de pétrole). Le pigment saponifié précipite à partir de la solution alcoolique alcaline par addition d'eau sous forme de flocons roses dont le spectre d'absorption dans CS_2 montre deux bandes (545,505 $m\mu$). Ce pigment n'a pas de caractère acide, car il passe dans l'éther de pétrole même à partir d'une solution alcoolique alcaline ; cependant sa solubilité dans l'éther de pétrole paraît être très minime. La solution éthérée de cette xanthophylle ne donne pas de coloration bleue avec l'acide chlorhydrique concentré ; il y a là une différence très nette avec la capsanthine et la capsorubine, deux xanthophylles montrant le même spectre d'absorption mais donnant une forte coloration bleue avec l'acide chlorhydrique. Le pigment d'*Oedipoda* rappelle par contre d'une manière frappante une xanthophylle trouvée par CHARGAFF et LEDERER dans le Bacille Grassberger. Nous ne pouvons pas affirmer que ces deux pigments soient identiques.

Les taches roses des fémurs d'*Oedipoda miniata* contiennent un mélange de pigments analogue à celui des ailes.

Les ailes bleues d'*Oedipoda coerulescens* ne contiennent que des traces minimales de caroténoïdes.

b) CRUSTACÉS.

L'astacine est le pigment principal des Crustacés décapodes. Elle a été obtenue à l'état cristallisé à partir des espèces suivantes :

Homard.....	<i>Astacus gammarus</i>	KUHN et LEDERER (7)
Araignée de mer..	<i>Maja squinado</i>	KUHN, LEDERER et DEUTSCH
Langouste	<i>Palinurus vulgaris</i>	FABRE et LEDERER (1, 2)
Etrille.....	<i>Portunus puber</i>	» » »
Tourteau.....	<i>Cancer pagurus</i>	» » »
Langoustine... ..	<i>Nephrops species</i>	» » »
Ecrevisse.....	<i>Potamobius astacus</i>	FABRE et LEDERER (2), WILLSTAEDT (1).

Il nous a paru peu important de prolonger la liste des Décapodes contenant de l'astacine, mais comme nous avons trouvé quelques exemplaires de *Eupagurus Prideauxii* (Bernard l'Ermite) dans des éponges provenant de Roscoff nous en avons étudié le pigment. C'est également l'astacine accompagnée de carotène.

Depuis, SOERENSEN (4) a obtenu de l'astacine cristallisée à partir des deux Phyllopoques *Holopedium gibberum* et *Daphnia magna* et de l'Amphipode *Gammarus pulex*.

L'étude de EULER, HELLSTRÖM et KLUSSMANN sur les pigments des Copépodes rouges *Calanus finmarchicus* présente un grand intérêt pour la question de l'origine de la vitamine A dans les foies de poissons, car *Calanus finmarchicus* se forme en quantités énormes dans les eaux septentrionales et sert de nourriture principale à la morue et au hareng. Nous apportons ci-dessous des précisions sur les caroténoïdes de *Calanus*.

18. *Eupagurus Prideauxii* (Bernard l'Ermite).

Nous avons retiré les animaux de leur coquille et les avons traité par de l'acide chlorhydrique dilué pour dissoudre la chaux. Mis dans l'acétone ils colorent le solvant en rouge-jaune. On fait passer le pigment dans l'éther de pétrole puis saponifie. Une partie passe dans l'alcool alcalin. Ce pigment a un caractère acide et montre une large bande avec un maximum à 485 m μ (dans l'éther de pétrole). Le colorant resté dans l'éther de pétrole montre les bandes d'absorption du carotène β (483, 453 m μ dans l'éther de pétrole).

19. *Calanus finmarchicus*.

EULER, HELLSTRÖM et KLUSSMANN avaient trouvé 3 pigments dans *Calanus finmarchicus* ; le premier avec des propriétés acides est probablement l'astacine ; le deuxième du carotène et le troisième un pigment encore inconnu qui absorbe la lumière spécialement dans la partie ultraviolette du spectre. Aucun de ces corps n'a été identifié exactement par les auteurs ni obtenu à l'état cristallisé.

En juillet 1937 nous avons reçu une certaine quantité de

Calanus finmarchicus provenant de Mourmansk. Nous en avons obtenu l'astacine à l'état cristallisé ; elle s'y trouve sous forme d'esters épiphasiques et hypophasiques. Nous y avons trouvé également, mais en très petite quantité, du carotène (sur 120 mg. d'astacine — 0 mg.,4 de carotène).

Nous examinerons plus loin l'intérêt de ces résultats pour la question de l'origine de la vitamine A dans les foies de poissons (p. 39).

ESSAIS. — Nous avons 500 g. de *Calanus* pêchés le 26 mai au nord des côtes de la Norvège (1). Les Copépodes avaient été conservés dans une solution saturée de sel marin ; à l'arrivée dans notre laboratoire (14 juin) ils étaient encore colorés en un rouge foncé analogue à la nuance d'une conserve de purée de tomate. On a constaté, sous le microscope que les animaux étaient fortement endommagés ; des gouttes rouges de graisse nageaient dans le liquide. D'après EULER, HELLSTRÖM et KLUSMANN ces gouttes rouges entourent, dans l'animal vivant, la partie postérieure de l'intestin.

Nous avons d'abord centrifugé la masse entière pour enlever une partie de l'eau ; puis nous avons traité 5 fois le résidu par l'acétone jusqu'à décoloration complète. L'acétone (3 l.) s'était colorée en rouge foncé ; après addition d'eau tout le pigment est passé facilement dans l'éther de pétrole (400 cm³). Après avoir lavé à l'eau nous avons agité l'éther de pétrole plusieurs fois avec de l'alcool éthylique à 85 p. 100, qui a extrait à peu près 60 p. 100 du pigment. Ainsi nous avons obtenu deux fractions : l'une dans l'éther de pétrole contenant l'ester épiphase de l'astacine et le carotène, l'autre dans l'alcool aqueux, contenant l'ester hypophase de l'astacine. Dans cette dernière fraction aurait dû se trouver aussi la vitamine A, mais nous n'en avons pas relevé trace.

Pour obtenir des cristaux d'astacine à partir de l'alcool aqueux nous y avons ajouté 100 cm³ de potasse alcoolique à 15 p. 100 et, après 4 heures de saponification à température ordinaire, 300 cm³ d'eau et 200 cm³ d'éther de pétrole. L'astacine saponifiée précipite alors sous forme de flocons rouges qui se rassemblent sous la couche d'éther de pétrole. Après les avoir filtré nous les avons lavé avec 20 cm³ d'alcool à 50 p. 100 et 20 cm³ d'éther de pétrole. Après avoir éliminé ces liquides de lavage nous avons ajouté 20 cm³ d'alcool à 50 p. 100 et 2 cm³ d'acide acétique à 80 p. 100 ; le sel amorphe de l'astacine se transforme immédiatement en cristaux étincelants d'astacine (rendement 60 mg.). Nous les avons recristallisés à partir de pyridine diluée d'eau et avons obtenu 25 mg. de cristaux d'astacine fondant à 228° et ayant une bande d'adsorption à 500 m μ (dans la pyridine).

Après saponification, la fraction des pigments épiphasiques nous a encore fourni 40 mg. d'astacine. La fraction des hydrocarbures était colorée en jaune orange. Après lavage à l'eau nous l'avons filtré sur une colonne d'oxyde de magnésium. La partie principale du pigment a formé sur la partie supérieure de la colonne un anneau rouge-foncé

(1) Nous tenons à remercier encore ici le Professeur MANTEUFFEL (Mourmansk), à l'amabilité duquel nous devons l'envoi de ce matériel.

donnant à l'élution un pigment hypophasique ; c'était apparemment un ester d'astacine. Le carotène est passé lentement à travers la colonne sous forme d'une zone jaune. (Rendement 0 mg.,4 ; 480,450 mu dans l'éther de pétrole). D'après le spectre d'absorption il s'agit d'un mélange de carotène α et β .

Le tableau suivant montre que *Calanus finmarchicus* est un matériel très riche en astacine.

Espèce.	Rendement pour un kg. de matière fraîche.
<i>Astacus gammarus</i>	30 mg.
<i>Dendroda grossularia</i>	60 mg.
<i>Calanus finmarchicus</i>	200 mg.

L'origine de la vitamine A dans le foie des Poissons. — Il est généralement admis que la vitamine A qui se trouve en grande quantité dans le foie des Poissons provient de la nourriture et est en fin de compte un produit de transformation du carotène. D'après des données biologiques (HJORTH, LEBOUR, PAULSEN) les Poissons se nourrissent de Crustacés et ceux-ci de Diatomées. Ainsi nous aurions la chaîne : Diatomées-Copépodes-Poissons. A un bout de cette chaîne les Diatomées, qui comme organismes à chlorophylle, contiennent du carotène et sont dépourvus de vitamine A (JAMESON, DRUMMOND et COWARD ; AHMAD), à l'autre bout les Poissons, dépourvus de carotène et riches en vitamine A. Devant ce contraste l'intérêt se concentre autour du membre intermédiaire de la chaîne dont on savait jusqu'ici fort peu de chose (EULER, HELLSTRÖM et KLUSSMANN).

Les résultats de nos expériences sont assez déconcertants : dans les Copépodes, le carotène des Diatomées a disparu presque entièrement et la vitamine A des Poissons n'y est pas encore formée (1). Ils ne contiennent que de l'astacine.

Il faut évidemment se garder de tirer des conclusions trop définitives de ces résultats, qui devraient être complétés par des recherches quantitatives sur la nourriture des Poissons. Pourtant il semble qu'il faille considérer la possibilité d'une synthèse de la vitamine A par les Poissons, indépendante du carotène. Nous espérons que la continuation de nos recherches sur le chromogène 693 (vitamine A_2) des Poissons d'eau douce pourra contribuer à éclaircir cette question. (Voir LEDERER et ROSANOVA ; LEDERER, ROSANOVA, GILLAM et HEILBRON ; GILLAM, HEILBRON, JONES et LEDERER). (Voir aussi la discussion de cette question chez EDISBURY, MORTON, SIMPKINS et LOVERN).

(1) Si on admet que la vitamine A n'ait pas été détruite dans l'échantillon que nous avons étudié ; DRUMMOND et GUNTHER ont constaté par l'essai biologique que le zooplancton ne contient que de très faibles quantités de vitamine A (ou de carotène). D'autre part EULER, HELLSTRÖM et KLUSSMANN avaient trouvé que des doses de 0 g.,2 à 0 g.,4 de *Calanus* provoquent une croissance quotidienne du rat de 0 g.,1 à 0 g.,45. Cet effet pourrait être dû à la faible quantité de carotène présente dans *Calanus*.

IV. — Echinodermes.

Les caroténoïdes sont assez largement répandus dans cette classe d'Invertébrés ; ils s'y trouvent souvent sous forme de chromoprotéides hydrosolubles de couleurs différentes.

MEREJKOVSKY a énuméré en 1881 une vingtaine d'espèces d'Echinodermes contenant une « zoonérythrine rouge ». Il semble s'agir ici de l'astacine. En effet, en 1934, KARRER et BENZ ont isolé de l'astacine cristallisée à partir de l'Astéroïde *Ophidiaster ophidianus*, et KARRER et SOLMSEN (3) ont obtenu le même pigment à partir de l'Etoile de mer *Echinaster sepositus*.

Nous devons en outre à KRUKENBERG, à MAC MUNN et à LÖNNBERG de nombreuses observations spectroscopiques sur les caroténoïdes des Echinodermes.

KARRER et SOLMSEN (3) ont confirmé nos données en ce qui concerne l'absence de caroténoïdes dans *Antedon rosacea* (LEDERER 5).

EULER et HELLSTRÖM ont fait une étude de la matière colorante d'*Asterias rubens*, connue déjà par une note d'ABELOOS. Il s'agit d'un chromoprotéide bleu, hydrosoluble, qui est décomposé par l'alcool et donne ainsi un caroténoïde rouge. Ce dernier a été nommé acide astérinique ; il n'a qu'une seule bande d'absorption (480 m μ dans la pyridine) et se rapproche ainsi de l'astacine. (Voir aussi EULER, HELLSTRÖM et KLUSSMANN).

Nous nous sommes occupés des lipochromes de l'oursin, *Strongylocentrotus lividus* (1). Les glandes sexuelles de cet animal sont colorées en orange par un mélange de caroténoïdes à partir duquel nous avons obtenu à l'état cristallisé le *carotène* β et un nouveau caroténoïde épiphastique, de formule $C_{40}H_{58}O$ ($\pm H_2$) que nous appelons *échinénone*.

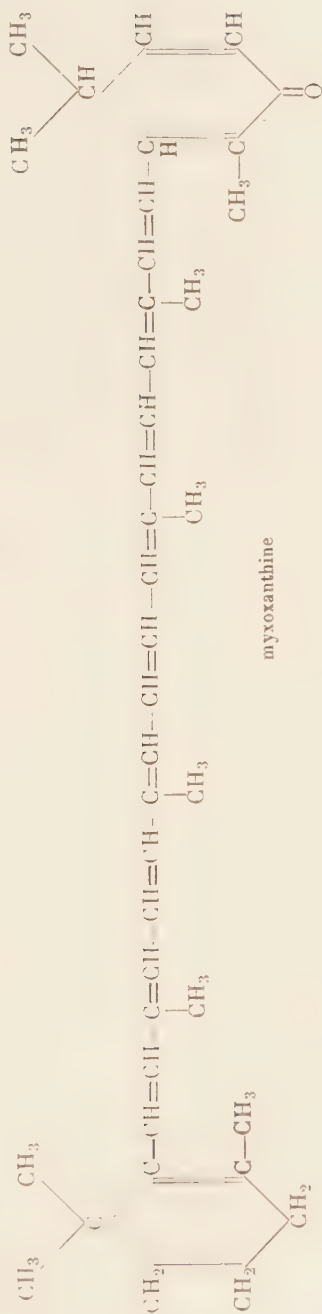
Dans le mésentère de l'oursin (sorte de peau très mince et colorée en violet foncé) nous avons trouvé un mélange de xanthophylles que nous avons fractionné par des adsorptions répétées. Nous avons ainsi obtenu à l'état pur une nouvelle xanthophylle, la *pentaxanthine* $C_{40}H_{56}O_5$ ($\pm H_2$). Ce pigment est accompagné d'une xanthophylle contenant probablement 6 atomes d'oxygène qui serait ainsi un isomère de la fucoxanthine. D'autres xanthophylles encore l'accompagnent en plus petite quantité, dont une contenant probablement 7 atomes d'oxygène.

L'échinénone n'a qu'un seul atome d'oxygène ; aussi nous semblait-il possible qu'elle agisse comme provitamine A, de même que la cryptoxanthine $C_{40}H_{56}O$. Des essais biologiques faits au laboratoire de Th. MOORE à Cambridge ont montré que l'*échinénone* agit en effet comme provitamine A dans des doses

(1) Appelé par erreur *Echinus esculentus* dans notre communication préliminaire.



échinénone (II)



myxoxanthine

comparables à celles des carotènes α et β (voir p. 44). L'échinénone est ainsi la *première provitamine A d'origine animale* (LEDERER et MOORE). Le carotène β qui se trouve souvent dans l'organisme animal est, remarquons-le, un corps d'origine végétale.

Les essais biologiques ainsi que diverses considérations chimiques indiquées plus loin (voir p. 45) permettent de donner la formule ci-dessus de l'échinénone (page 41).

Depuis, HEILBRON et LYTHGOE ont publié un travail très intéressant sur les caroténoïdes des Myxophycées. Dans leur mémoire ils décrivent un nouveau caroténoïde, la myxoxanthine, qui est « aussi caractéristique pour les Myxophycées que la fucoxanthine pour les Phéophycées ». La myxoxanthine est une monocétone $C_{40}H_{56}O$ et agit comme *provitamine A*. Voir la formule page 41.

La myxoxanthine se rapproche de très près de l'échinénone ; il nous semble même possible que ces deux pigments soient identiques. Nous en discuterons plus loin (voir p. 48).

Dans le même travail, HEILBRON et LYTHGOE décrivent une xanthophylle, la myxoxanthophylle, $C_{40}H_{56}O_7$, qui accompagne la myxoxanthine. Elle aussi ressemble aux xanthophylles à 6 et 7 atomes d'oxygène que nous avons trouvé dans l'oursin.

19. *Strongylocentrotus lividus* (Oursin).

Les carapaces de 400 animaux (achetés à la Maison Prunier) étaient colorées en violet ou en vert. Nous avons d'abord vérifié que ces deux variétés contiennent à peu près les mêmes caroténoïdes et avons ensuite traité les deux lots ensemble. Nous en avons enlevé les glandes sexuelles et les avons broyé avec du sable. Plus tard nous avons trouvé plus pratique de vider aussi bien que possible tout le contenu de la carapace et de traiter celle-ci par de l'acétone pour extraire le pigment des restes du mésentère qui y adhèrent.

Le liquide que l'on obtient en ouvrant les animaux est coloré en brun-rouge, mais ne contient que très peu de caroténoïdes, liés sous forme de chromoprotéides.

Le *pigment violet de la carapace* des Oursins n'est pas un caroténoïde. Nous l'avons obtenu en solution en traitant la carapace avec de l'acide chlorhydrique ; la chaux se dissout et on obtient un liquide rouge dont on peut enlever la plus grande partie du pigment par trois extractions avec de l'éther ; ce solvant se colore en rouge foncé. Nous l'avons lavé avec de l'eau et agité avec une solution diluée de bicarbonate de sodium ; la couche aqueuse absorbe le pigment et se colore en violet foncé ; le pigment se comporte donc comme un acide ; il est probable que la couleur violette des épines d'oursin provient d'un sel de

calcium de cet acide. En acidifiant la solution alcaline nous avons fait passer le pigment dans l'éther. Par évaporation de ce solvant nous avons obtenu des cristaux du pigment. Nous avons l'intention de nous en occuper un jour.

EXTRACTION. — Pour extraire les caroténoïdes des organes de l'Oursin, broyé avec du sable, il faut les traiter plusieurs fois par l'acétone. On réunit les liqueurs fortement colorées avec celles obtenues en traitant les carapaces par l'acétone et les concentre dans le vide. On y ajoute de l'eau et agite avec de l'éther de pétrole, puis avec du benzène jusqu'à ce que l'acétone aqueuse soit devenue incolore. L'éther de pétrole a absorbé des xanthophylles, un peu d'esters de xanthophylles et la fraction des « hydrocarbures ». On l'agite d'abord avec du méthanol à 90 p. 100 pour en enlever les xanthophylles, puis on le saponifie. La fraction des esters de xanthophylles obtenue ainsi contient surtout de la chlorophylle. Après saponification l'éther de pétrole reste coloré en rouge.

Le benzène a absorbé la plus grande partie des xanthophylles et une partie des produits dérivés de la chlorophylle.

FRACTION DES HYDROCARBURES. — Nous avons lavé l'éther de pétrole avec de l'eau, l'avons séché avec du sulfate de sodium et l'avons gardé à la glacière pour en faire précipiter les stérols. Nous les avons filtré à froid et avons ainsi obtenu 8 g. de stérols (à partir de 400 animaux) (1). Nous avons ensuite filtré l'éther de pétrole sur une colonne de chaux et l'avons lavé avec le même solvant jusqu'à ce que la plus grande partie du pigment soit passée dans le filtrat. La chaux reste colorée en rose. Le filtrat de la chaux a été ensuite filtré sur de l'alumine. Il se forme une large zone violet-foncée contenant l'échinénone. Le filtrat de l'alumine est coloré en jaune-orange. Par évaporation et recristallisation à partir du benzène et du méthanol nous en avons obtenu 5 mg. de carotène (p. f. 178°, 50 p. 100 de carotène α et 50 p. 100 de carotène β , 481,450 m μ dans l'éther de pétrole).

ECHINÉNONE.

Le pigment de la zone violette formé sur l'alumine n'est pas encore homogène. Nous l'avons purifié par des adsorptions répétées sur de l'alumine et sur la chaux. La zone violette formée sur ces adsorbants, d'abord nettement divisée en deux parties différentes devient de plus en plus uniforme. Les pigments qui accompagnent le pigment principal semblent n'en différer que très peu. On arrive à les éliminer presque entièrement par trois

(1) D'après le point de fusion, le point de fusion de l'acétate et le point de fusion d'un mélange de l'acétate avec l'acétate de cholestérol, il s'agit de cholestérol.

ou quatre adsorptions. Finalement nous avons concentré l'éluat dans l'éther de pétrole à 1 cm³ et l'avons gardé à la glacière. Après deux jours, des grands cristaux violet-foncés se sont déposés. Nous les avons recristallisés à partir de benzène et de méthanol et avons obtenu 4 mg. d'aiguilles bleu-violettes à reflets métalliques fondant à 192-193°. (Fig. 5).

Propriétés physiques. — Le spectre d'absorption de l'échinénone montre une large bande avec un maximum à 488 mμ (dans CS₂) et deux autres maxima très peu prononcés (520,450 mμ) que l'on pourrait peut-être faire disparaître par une purification plus poussée.

Propriétés chimiques. — L'analyse élémentaire donne comme formule de l'échinénone C₄₀H₅₈O (± H₂).

1 mg.,708 de substance ont donné : 1 mg.,65 de H₂O et 5 mg.,41 de CO₂.
Trouvé..... 10,81 p. 100 de H et 86,39 p. 100 de C
Calculé pour C₄₀H₅₈O..... 10,55 p. 100 de H et 86,56 p. 100 de C

L'échinénone dissoute dans l'éther de pétrole donne avec une solution d'iode dans le même solvant un iodure sous forme d'un précipité brun foncé. Si on le filtre rapidement et le dissout dans l'acétone, on peut en enlever l'iode par le thiosulfate et régénérer ainsi l'échinénone que l'on purifiera par une adsorption sur de l'alumine. Après évaporation de l'éluat les cristaux du pigment apparaissent. (Pour la technique de cette réaction voir KUHN et LEDERER, 6).

ESSAIS BIOLOGIQUES (Th. MOORE, Cambridge). — La préparation la plus pure d'échinénone a été administrée à des rats blancs carencés en vitamine A, soumis au régime suivant :

20 p. 100 de caséine (épuisée à l'alcool à chaud)
60 p. 100 de sucre de canne
15 p. 100 d'huile d'arachide
5 p. 100 de mélange de sel
+ 10 p. 100 de levure sèche
+ 1 goutte de calciférol par jour.

Les rats servant de contrôle meurent au bout de 40 ou 60 jours. Comme le montre la figure 6, des doses quotidiennes de 5 et de 10 γ d'échinénone permettent une croissance parfaite tandis que des doses de 2 γ,5 ne produisent qu'un léger effet. Nous pouvons conclure que l'échinénone agit au moins aussi bien que le carotène α qui d'après KUHN et BROCKMANN provoque une croissance normale avec des doses quotidiennes de 5 γ. (Fig. 6 ; p. 49).

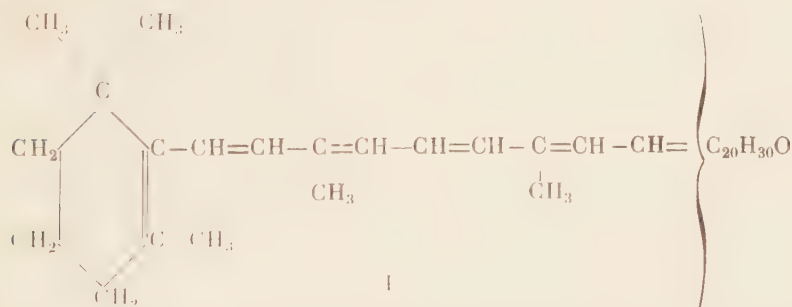
Un rat, guéri par de petites doses d'échinénone, a absorbé en outre 4 mg. d'échinénone en quelques jours. Après cela son foie contenait à peu près 0 mg.,1 de vitamine A et la graisse de son foie donnait avec le trichlorure d'antimoine une solu-

tion bleue avec la bande d'absorption à 625 mμ, caractéristique pour la vitamine A. La graisse du foie ne contenait que des traces de pigment (30 unités jaunes, d'après MOORE).



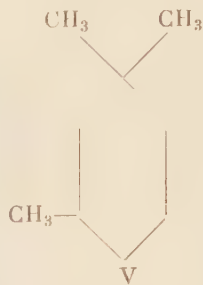
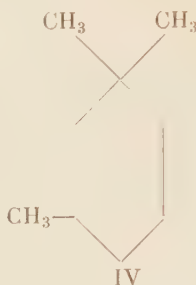
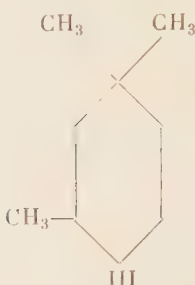
FIG. 5. — Cristaux d'échinénone ; lumière polarisée (aggr. 150 ×).

STRUCTURE CHIMIQUE. — Les essais biologiques montrent clairement que l'organisme animal transforme l'échinénone en vitamine A. D'après tous les travaux sur les provitamines A naturelles et synthétiques (EULER, KARRER, KUHN, MOORE) on peut conclure que la molécule de l'échinénone contient comme toutes les autres provitamines une moitié de la molécule du carotène β. Ainsi 20 atomes de carbone et 28 atomes d'hydrogène sont fixés (formule I) :



Remarquons, en outre, que tous les caroténoïdes à 40 atomes de carbone ont la même chaîne insaturée et ne diffèrent l'un de l'autre que par la structure des deux bouts de la chaîne ; ainsi on peut un peu plus développer la formule ci-dessus et arriver à la formule II (voir p. 41).

La structure du deuxième bout de la chaîne reste à élucider ; elle est sans doute représentée par l'une des structures III, IV ou V et porte un groupement cétonique :



Le groupement cétonique est indiqué par la large bande d'absorption à 488 m μ (dans CS₂). Il doit être conjugué avec le système de doubles liaisons. Sinon il ne pourrait pas influencer le spectre d'absorption (KUHN et BROCKMANN).

RAPPORTS DE L'ÉCHINÉNONE ET DE LA MYXOXANTHINE. — Nous allons maintenant nous occuper plus en détail du mémoire de HEILBRON et LYTHGOE cité ci-dessus pour éclaircir la structure de l'échinénone.

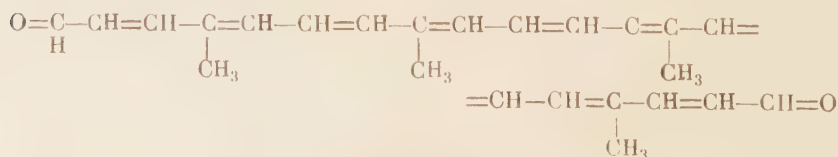
Ces auteurs ont constaté les faits suivants : la myxoxanthine est un pigment épiphasique, bien adsorbé sur les oxydes de magnésium et de calcium sous forme d'une zone violette. Elle a une seule bande d'absorption (à 488 m μ dans CS₂) et cristallise sous forme d'aiguilles violettes à reflets métalliques. Point de fusion : 167-169°. Formule brute C₄₀H₅₈O.

La myxoxanthine donne une monoxime C₄₀H₅₉ON et possède 11 doubles liaisons. Le groupe cétonique est en conjugaison avec le système de doubles liaisons, car après réduction par l'isopropylate d'aluminium le spectre d'absorption change entièrement. L'alcool ainsi obtenu, le myxoxanthol, a le même spectre d'absorption que le carotène γ et comme le concluent les auteurs, par ce fait il a le même système insaturé.

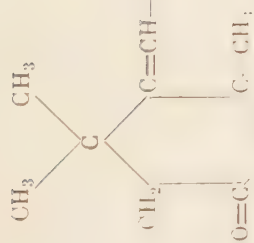
La myxoxanthine est donc un carotène γ portant au bout ouvert de la chaîne un groupe cétonique conjugué avec le système des 11 doubles liaisons et avec la double-liaison isolée du bout (voir p. 41).

Ceci a permis à HEILBRONN et LYTHGOE d'établir une règle en ce qui concerne l'influence d'un groupe carbonyle sur le spectre d'absorption des caroténoïdes.

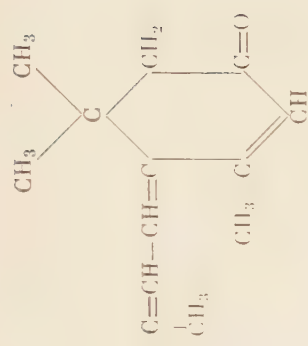
Des caroténoïdes portant un groupe carbonyle *au bout* de la chaîne insaturée (lycopénal, bixine-aldéhyde, caroténone β , rhodoxanthine, capsanthine, capsorubine, etc...) ont un spectre d'absorption normal à 3 bandes.



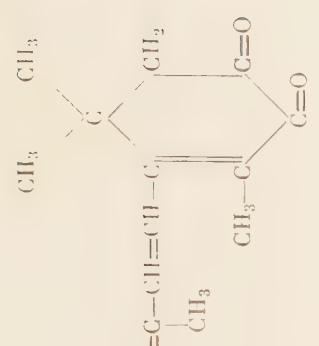
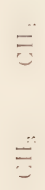
Bixine-aldéhyde



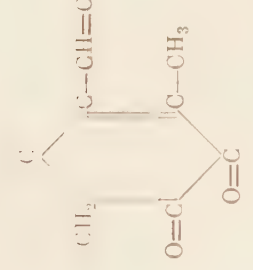
CH



Rhodoxanthine



Astacine



Des caroténoïdes dans lesquels, au contraire, le groupe carboxyle se trouve entre 2 systèmes conjugués n'ont qu'une seule bande d'absorption. (Astacine, myxoxanthine).

En comparant les données sur la myxoxanthine avec nos données sur l'échinénone nous constatons le *parallélisme* suivant :

1) Les deux corps ont la formule brute $C_{40}H_{58}O$ (voir p. 44). Une micro-analyse de l'échinénone indique qu'une teneur en hydrogène de 2 atomes de plus ou de moins n'entre guère en question.

2) Les deux corps sont épiphasiques et forment sur les oxydes de magnésium et de calcium une zone d'adsorption violette.

3) Les deux corps sont des provitamines A. D'après HEILBRON et LYTHGOE, la myxoxanthine est active dans des doses de 10 γ ; d'après MOORE l'équinénone est active dans des doses de 5 γ ; l'activité biologique des deux corps prouve donc qu'au moins *une moitié de leurs molécules sont identiques*.

D'autre part nous constatons entre les deux corps les *différences* suivantes :

1) POINTS DE FUSION. — Myxoxanthine 168-169° ; échinénone 192-193°. En ce qui concerne l'échinénone, remarquons que la plupart de nos préparations fondaient à 178-179° et que la valeur 193° n'a été atteinte qu'une seule fois. Même en admettant qu'il s'agissait d'une erreur, il reste une différence de 10° entre les points de fusion des deux corps. Ajoutons que nos déterminations ont été faites dans un appareil à microscope de Reichert avec thermo-élément tandis que HEILBRON et LYTHGOE ont employé le bloc Berl. Ceci pourrait expliquer une partie de la différence. En prenant en considération le fait qu'il est souvent difficile de déterminer exactement le point de fusion des caroténoïdes et que les observations de différents travailleurs ne concordent que rarement et en supposant que le produit des auteurs anglais ait été moins purs que le nôtre on peut penser que la différence des points de fusion n'exclut pas l'identité des deux pigments.

2) SPECTRES D'ABSORPTION. — D'après HEILBRON et LYTHGOE la myxoxanthine a une seule bande d'absorption, à 488 m μ (dans CS_2) ; or, en observant l'échinénone avec notre spectroscope (n° 3500 de BECK, London) nous n'avons également trouvé qu'une seule bande située à 488 m μ . Une détermination faite dans l'Institut du Professeur KUHN à Heidelberg avec un appareil photo-électrique a décelé deux autres bandes assez faibles à 520 à 450 m μ . Il est très possible que ces deux bandes ne soient pas dues à l'échinénone, mais à un pigment qui l'accompagne. Dans ce cas, les spectres de l'échinénone et de la myxoxanthine seraient identiques.

Il est clair que la question de l'identité des deux pigments ne peut être résolue que par une comparaison exacte des deux corps. Malheureusement nous n'avions plus d'échinénone quand HEILBRON et LYTHGOE ont publié leur mémoire. Le professeur HEILBRON, auquel nous avons communiqué nos réflexions sur cette question pense que les deux corps ne sont pas identiques.

FRACTION DES XANTHOPHYLLES. — Nous avons réuni avec la solution benzénique les xanthophylles extraites de l'éther de

pétrole par le méthanol à 90 p. 100. Après avoir lavé et séché cette solution nous l'avons filtré sur de l'oxyde d'aluminium. Il se forme une zone rouge foncée qui se divise bientôt en deux et que suit une zone orangée moins large. Nous désignons ces trois zones par X I, X II et X III. L'éluion des pigments a été faite par le méthanol.

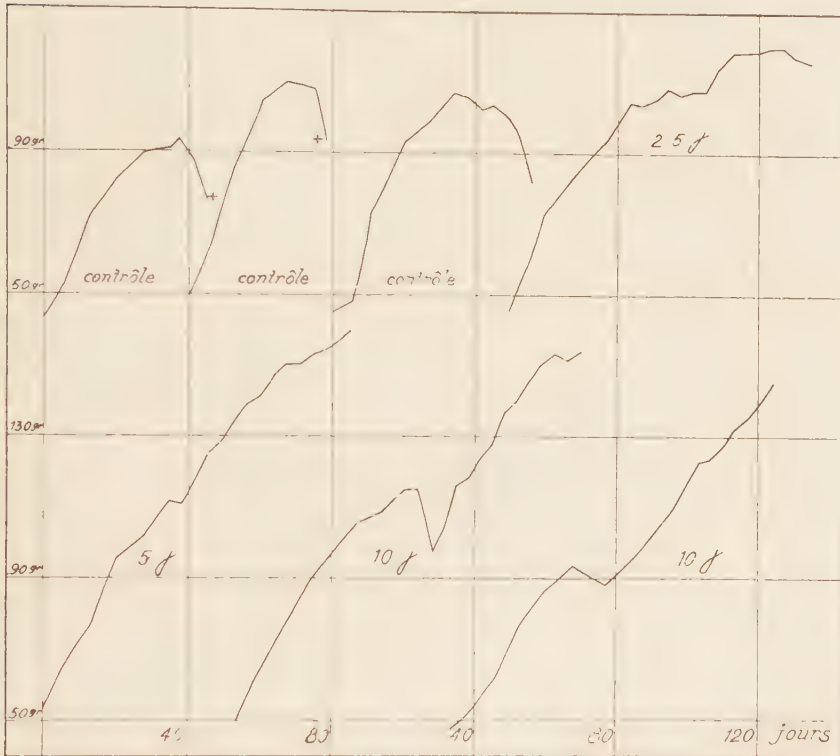


Fig. 6. — Essais biologiques avec l'échinénone (v. p. 44).

Après lavage par le benzène la colonne au-dessus de X I reste colorée en jaune. Nous en avons élué le pigment par le méthanol et y avons ajouté de l'eau et de l'éther de pétrole ; des flocons amorphes oranges précipitent. Nous n'avons pas pu purifier ce pigment davantage mais nous pensons qu'il contient plus d'atomes d'oxygène que le pigment de la zone X I qui en a sans doute 6 (voir p. 50). Sa solution éthérée donne avec l'acide chlorhydrique concentré une belle coloration bleue foncée.

Fraction X I. — Après avoir repris l'éluat par le benzène nous l'avons filtré sur du carbonate de calcium. Il se forme deux zones rouges dont la deuxième est très large. Les deux pigments, dissous

dans l'éther donnent avec l'acide chlorhydrique concentré une coloration bleu foncée. Nous nous sommes surtout occupé du deuxième pigment qui se trouvait en plus grande quantité. Nous avons repris par le benzène l'éluat de ce pigment et l'avons concentré à 10 cm³. Après quelques jours passés à la glacière il se forme quelques cristaux encore impurs (p. f. 120-128°) que nous n'avons pas pu purifier davantage. Comme ce pigment se trouvait adsorbé au dessus de la zone XII contenant la pentaxanthine (v. p. 51), pigment à 5 atomes d'oxygène, nous avons pensé qu'il contenait 6 atomes d'oxygène et c'est pourquoi une *comparaison avec la fucoxanthine* s'imposait.

Nous l'avons fait suivant la méthode des trois tubes (v. p. 9). La fucoxanthine dont nous devons un échantillon à l'amabilité de M. I. M. HEILBRON (Manchester) formait une zone assez diffuse sur la partie supérieure de la colonne de carbonate de calcium, la fraction X I une zone plus nette et située un peu plus bas. Le tube contenant le mélange des deux pigments montrait deux zones très nettes dont la supérieure correspondait à la fucoxanthine et la seconde à la xanthophylle X I. *Les deux pigments sont donc différents* mais leur différence ne peut guère provenir que de la position des atomes ou d'un seul atome d'oxygène.

La fucoxanthine donne une réaction caractéristique, découverte par WILLSTÄTTER et PAGE ; ces auteurs ont observé que l'alcali dilué transforme la fucoxanthine en un corps qui donne avec des acides très dilués une coloration bleue ou verte et qui a une bande d'absorption dans le violet. Nous avons constaté que la xanthophylle X I donne la même réaction.

Nous avons additionné d'alcali des solutions méthanoliques des deux pigments et les avons gardé ainsi pendant une nuit. Après addition d'acide chlorhydrique à 0,5 p. 100 ou d'acide acétique très dilué les deux échantillons donnent une forte coloration verte. Par addition d'alcali la couleur jaune réapparaît. Les solutions méthanoliques des deux pigments jaunes montrent une forte bande d'absorption à 450 mμ.

Nous avons repris par le benzène les pigments transformés par l'alcali et les avons adsorbé sur trois tubes. Chacun des deux pigments forme un anneau *vert* sur la partie supérieure de leur colonne de carbonate de calcium. Le mélange des deux pigments forme *deux* anneaux verts très rapprochés. D'après la nuance de la couleur l'anneau du colorant dérivé de la fucoxanthine est le supérieur. Dans cette expérience la non-identité des deux pigments s'est vu confirmée.

Fraction X II. — Le pigment de la deuxième zone formée sur l'alumine n'est pas encore homogène. Par adsorption sur du carbonate de calcium on peut le séparer en deux corps l'un (X IIa) étant la pentaxanthine, l'autre (X IIb) un isomère moins bien adsorbé et que nous n'avons pas pu obtenir à l'état pur.

PENTAXANTHINE.

Nous avons purifié le pigment de la zone X IIa par deux adsorptions sur du carbonate de calcium en employant le benzène comme solvant. La pentaxanthine est adsorbée sous forme d'une zone rouge très nette. Nous l'avons élué par le méthanol et avons évaporé cette solution à sec ; nous avons ensuite repris le résidu par le benzène très pur et l'avons agité trois fois avec de l'eau distillée en y faisant barboter du CO_2 . (Ceci pour en enlever les restes de carbonate de calcium passés dans l'éluat méthanolique). Nous avons ensuite filtré le benzène à travers un filtre d'Iéna dense (G 4) et avons concentré le filtrat à 10 cm^3 . La pentaxanthine cristallise à la glacière sous forme de prismes rouges, pointus aux bouts, et souvent croisés (voir fig. 7). Après deux recristallisations à partir de benzène ils fondent à 209-210°. (Rendement 40 mg. à partir de 400 animaux).

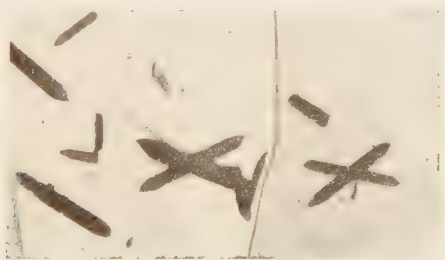


FIG. 7. — Cristaux de pentaxanthine (aggr. 150 $\times$).

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES. — Le spectre d'absorption de la pentaxanthine montre dans le sulfure de carbone trois bandes situées à 506, 474, 444 $\text{m}\mu$ et s'avère ainsi entièrement identique à celui de la lutéine (xanthophylle) $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2$. Ses bandes d'absorption dans le benzène sont à 487, 456, 424 $\text{m}\mu$. Dans le méthanol les bandes sont très peu précises (fig. 8).

La pentaxanthine cristallisée est très peu soluble dans l'éther de pétrole, assez soluble dans le benzène, surtout à chaud et bien soluble dans le méthanol, le sulfure de carbone et le chloroforme.

L'identité des spectres d'absorption de la pentaxanthine et de la lutéine a rendu nécessaire une comparaison exacte de ces deux pigments. Ils se distinguent nettement par leur pouvoir d'adsorbabilité : la pentaxanthine forme sur le carbonate de calcium une zone rouge sur la partie supérieure de la colonne, tandis

que la lutéine descend le long de la colonne en formant une zone jaune.

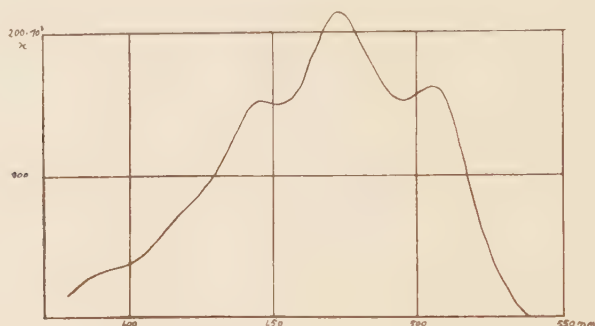


FIG. 8. — Spectre d'absorption de la pentaxanthine dans CS_2 .

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES. — La comparaison de l'adsorbabilité de la pentaxanthine et de la lutéine fait déjà prévoir que la première contient plus d'atomes d'oxygène. Les analyses confirment cette supposition et donnent à la pentaxanthine la formule $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_5 (\pm \text{H}_2)$:

2 mg.,958 de substance ont donné :	2 mg.,43 de H_2O et 8 mg.,42 de CO_2
3 mg.,390 de substance ont donné :	2 mg.,72 de H_2O et 9 mg.,66 de CO_2
Trouvé.....	9,19 p. 100 de H et 77,63 p. 100 de C
Trouvé.....	8,98 p. 100 de H et 77,72 p. 100 de C
Calculé pour $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_5$	9,17 p. 100 de H et 77,86 p. 100 de C

La pentaxanthine est donc une xanthophylle à 5 atomes d'oxygène et prend une place encore vacante dans la série des xanthophylles. Elle est facile à distinguer de la fucoxanthine $\text{C}_{40}\text{H}_{66}\text{O}_6 (\pm \text{H}_2)$ qui a le même spectre d'absorption, par sa réaction avec l'acide chlorhydrique qui est négative.

Une molécule de pentaxanthine donne, en présence du réactif de GRIGNARD, 3 molécules de méthane (dosage de ZEREVITINOV d'après ROTH) :

7 mg.,450 de substance ont donné	0 cm ³ ,80 de méthane (vol. réduit)
Calculé pour 3 molécules.....	0 cm ³ ,81 de méthane

Ceci est une analogie avec la fucoxanthine $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_6 (\pm \text{H}_2)$, qui ne donne que 4 molécules de méthane (KARRER, HELFENSTEIN, WEHRLI, PIEPER et MORF ; HEILBRON et PHIPERS). D'après ces derniers auteurs, les deux atomes d'oxygène qui ne réagissent pas avec le réactif de GRIGNARD formeraient deux groupements cétoniques qui ne réagiraient pas non plus avec les réactifs cétoniques habituels. Les mêmes réflexions peuvent s'appliquer

à la pentaxanthine qui contient un groupe hydroxyle de moins que la fucoxanthine.

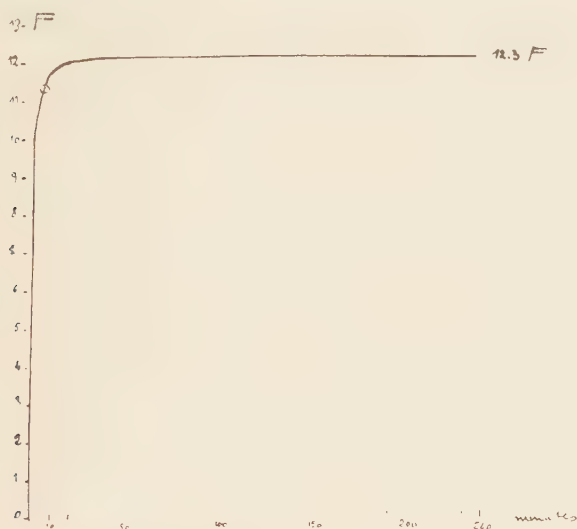


Fig. 9. - Hydrogénation catalytique de la pentaxanthine. A O décoloration.

Au cours d'une hydrogénation micrométrique d'après KUHN et MÖLLER la pentaxanthine a absorbé 12,3 molécules d'hydrogène (fig. 9). Nous basant sur son spectre d'absorption (identique à celui de la lutéine avec 11 doubles liaisons conjuguées) nous pensons que la pentaxanthine en a aussi 11 et que le reste de l'hydrogène a été consommé pour l'hydrogénation de groupements cétoniques ou de doubles liaisons isolées.

V. - Spongiaires.

D'après les travaux de KRUKENBERG, de MAC MUNN et de LÖNNBERG on sait que de nombreuses espèces d'Éponges contiennent des lipochromes, parmi lesquels se trouvent des pigments à une bande d'adsorption que nous pouvons rapprocher de l'astacine, et des pigments à deux ou trois bandes ressemblant aux carotènes ou aux xanthophylles.

Dans une étude récente BERGMANN et JOHNSON s'occupent du pigment rouge de *Microciona prolifera* ; il s'agit peut-être de carotène, mais les auteurs n'ont pas pu identifier le pigment.

Pendant notre travail, KARRER et SOLMSEN ont publié un mémoire dans lequel ils décrivent la préparation d'astacine cristallisée à partir d'*Axinella crista galli*.

Dans *Suberites domuncula* (provenant de la baie de Naples) ces auteurs ont observé un pigment avec une bande d'absorption (à 500 m μ dans CS₂) qu'ils disent être de l'astacine. Ces données sont en contradiction avec les observations de MAC MUNN, qui y a trouvé des pigments à 2 bandes d'absorption et avec nos propres résultats. Nous avons travaillé sur des *Suberites* provenant de Tamaris (Var). Le colorant de ces animaux est entièrement épiphasique, même après saponification, ce qui exclut la possibilité que ce soit l'astacine. Par adsorption nous avons séparé le pigment en plusieurs fractions, différant beaucoup par leur spectre d'absorption et dont la première bande variait entre 560 et 515 m μ (dans CS₂). Le pigment le plus foncé se rapproche du torulène, pigment de la levure rouge *Torula rubra*, que nous avons obtenu à l'état pur (LEDERER, 3 ; voir aussi FINK et ZENGER). Les autres fractions de *Suberites* avaient des bandes d'absorption correspondant au lycopène, au carotène γ et au carotène β , mais c'étaient probablement des corps oxygénés.

Dans *Ficulina ficus* nous avons trouvé un mélange de corps épiphasiques analogue à celui de *Suberites*. Nous en avons obtenu le carotène β à l'état cristallisé.

21. *Suberites domuncula*.

ESSAIS. — Nous avons exprimé l'eau de 8 animaux provenant de Tamaris et les avons hâché ; la purée pesait 100 g. Après 8 extractions par l'acétone, le résidu était presque incolore. Par addition d'eau on fait passer le pigment dans l'éther de pétrole ; il est entièrement épiphasique : des traces de couleur passent dans le méthanol à 90 p. 100. Après saponification par la soude alcoolique et après addition d'eau l'alcool alcalin se colore en brun-vert ; l'éther de pétrole reste coloré en rouge foncé.

En filtrant cette solution sur de l'alumine il se forme deux zones ; la première, sur le bord supérieur de la colonne est violette et la deuxième, au milieu de la colonne est rouge ; le filtrat est jaune. Le pigment de la première zone n'avait pas de spectre d'absorption caractéristique ; il s'agissait probablement de produits de décomposition. Nous avons purifié le pigment de la deuxième zone par une deuxième adsorption sur de l'alumine. Il se forme une zone rouge sur la partie supérieure de la colonne ; nous avons repris l'éluat de cette zone par l'éther de pétrole et y avons ajouté de l'alcool ; il se forme un précipité rouge amorphe ; en reprenant l'éluat par le benzène et en précipitant par l'alcool nous avons obtenu un précipité partiellement cristallisé (prismes pointus). Ce précipité n'est pas encore homogène ; en adsorbant sa solution dans l'éther de pétrole sur l'oxyde de calcium il se forme trois zones :

- | | |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| 1) violette, assez nette | 563, 528 m μ dans CS ₂ |
| 2) brun-rouge diffuse | 542, 500 m μ dans CS ₂ |
| 3) rouge-orange | 534, 492 m μ dans CS ₂ |

Le pigment de la zone 1 ressemble beaucoup au torulène (565, 522, 488 m μ dans CS₂) ; nous n'avons pas pu comparer exactement ces deux pigments, ni purifier davantage le colorant de la zone 1.

Le pigment de la zone 2 a à peu près le spectre d'absorption du lycopène mais il ne lui est pas identique. Un mélange des deux corps, adsorbé sur de l'alumine forme 2 zones, dont la supérieure, brun-violette, représente le pigment de Suberites (505 m μ dans l'éther de pétrole), tandis que la deuxième, brun-rouge, est formée par le lycopène (504 m μ).

Il s'agit évidemment ici d'un des lycopènes oxygénés (lycoxanthine ou lycophylle) décrits par ZECHMEISTER et CHOLNOKY (3).

Le pigment de la zone 3 rappelle par son spectre d'absorption le carotène γ ; nous n'avons pas pu le comparer avec cet hydrocarbure.

Nous avons travaillé une deuxième fois sur 330 g. de *Suberites domuncula* de la même provenance. Extraction par l'acétone, partage dans l'éther de pétrole, saponification comme la première fois. Le pigment reste dans l'éther de pétrole. Nous avons alors filtré cette solution sur une colonne de chaux ; après lavage avec le même solvant la partie supérieure de la colonne est colorée en violet tandis que le filtrat (d'abord jaune) est devenu rouge. Le pigment violet fixé sur la colonne paraît consister en produits de décomposition ; nous ne nous en sommes plus occupé.

Le pigment passé dans le filtrat de la chaux a été adsorbé sur de l'alumine. Il se forme 3 zones que nous appellerons a, b et c. La zone a est violette et ne montre pas de spectre d'absorption précis ; nous l'avons encore purifié par une adsorption sur du carbonate de calcium ; il se forme 4 zones violettes (a α) très rapprochées et très bien dessinées, et en dessous une zone orange (a β) moins bien adsorbée et moins nette. L'éluat des 4 zones (a α) (impossibles à séparer mécaniquement) montrait les bandes suivantes : 556, 521 m μ dans CS₂ et 515, 484, 450 m μ dans l'éther de pétrole. Le torulène a les bandes suivantes : 566, 522, 491 m μ dans CS₂ et 523, 491, 460 m μ dans l'éther de pétrole. Le pigment de Suberites est entièrement épiphásique par rapport au méthanol à 90 p. 100, mais il cède 10 p. 100 au méthanol à 95 p. 100.

Le pigment de la zone orange (a β) n'est pas encore homogène ; adsorbé sur de la chaux il forme un anneau rouge diffus, encadré par deux parties également colorées. Les spectres d'absorption de ces 3 zones sont les suivantes : I : 493, 459 m μ dans l'éther de pétrole ; II : 489, 457 m μ ; III : 486, 451 m μ . Ce sont les spectres d'absorption du carotène γ (I) et du carotène β (III). Une purification plus poussée n'était plus possible ; il s'agit peut-être de caroténoïdes oxygénés et non d'hydrocarbures.

Nous avons réunis les fractions b et c formées sur la chaux et en avons adsorbé le pigment sur l'alumine. Nous y avons observé deux zones : I : 480, 448 m μ ; II : 477, 445 m μ (dans l'éther de pétrole). Le filtrat s'est coloré en jaune (476, 444 m μ dans l'éther de pétrole ; 1 mg., 3 colorimétré comme carotène α). Les deux derniers pigments ont le spectre d'absorption du carotène α .

22. *Ficulina ficus*.

ESSAIS. — Nous avons à notre disposition 4 kilos de ces animaux qu'on nous avait envoyé de Roscoff dans une solution saturée de sel (1). Une partie des animaux était déjà décolorée. Nous en avons exprimé l'eau par une presse ; le liquide est coloré en brun-rouge et contient un chromoprotéide, que l'on peut décomposer par l'acétone. Après addition de ce solvant le pigment devient soluble dans l'éther de pétrole ; il est presque entièrement épiphasique, même après saponification. A partir de 1,8 litre de liquide nous avons obtenu 10 mg. de pigment épiphasique (colorimètre).

Ensuite nous avons découpé les animaux et les avons traité plusieurs fois avec de l'acétone ; par addition d'eau nous avons fait passer le pigment dans l'éther de pétrole ; nous avons concentré le solvant dans le vide et avons gardé la solution pendant trois jours à la glacière. Des stérols précipitent que l'on sépare. Nous avons dilué le filtrat avec de l'éther de pétrole et l'avons agité avec du méthanol à 90 p. 100 ; une petite partie du pigment passe dans la couche inférieure (1 mg.) ; c'est la fraction des xanthophylles. Après saponification l'éther de pétrole contient encore 16 mg. de pigment ; l'alcool alcalin se colore en vert-brun et se trouve dépourvu de caroténoïdes.

Nous avons filtré l'éther de pétrole sur de la chaux et avons lavé la colonne avec le même solvant jusqu'à ce que la plus grande partie du colorant soit passée dans le filtrat. La chaux reste légèrement rouge. Le filtrat forme sur de l'alumine deux zones principales : l'une violette, l'autre orange. L'éluat de la zone violette a été adsorbé sur du carbonate de calcium ; comme chez *Suberites* il se forme 4 anneaux violets, très distincts ; nous avons pu les séparer à peu près ; leurs pigments ont tous les mêmes bandes d'absorption ; 515, 486, 453 m μ (dans l'éther de pétrole) ; la première bande dans CS₂ est à 556 m μ . Il est bien évident qu'il s'agit ici des mêmes quatre isomères ressemblant au torulène, que nous avons déjà observé chez *Suberites*.

L'éluat de la zone orange a été adsorbé sur de la chaux ; il se forme deux anneaux ; le premier, orange, contient peut-être du carotène γ (488, 456 m μ dans l'éther de pétrole) ; le deuxième, jaune-orange, du carotène β (482, 452 m μ). Le filtrat est jaune et montre le spectre d'absorption du carotène α (476, 446 m μ).

Avec une autre partie de l'éluat de la zone orange nous avons fait l'essai suivant : après l'avoir évaporé à sec dans le vide nous l'avons repris par de l'éther de pétrole et l'avons additionné d'une solution d'iode dans le même solvant. Le précipité brun-noir a été immédiatement filtré et dissout dans l'acétone. Nous avons enlevé l'iode par addition d'une solution aqueuse de thiosulfate, avons repris le pigment par l'éther de pétrole et l'avons filtré sur de l'alumine. Le pigment passe dans le filtrat après lavage ; nous avons ensuite concentré le filtrat à 1 cm³ dans le vide et y avons ajouté de l'alcool absolu. Nous avons ainsi obtenu 1 mg. de cristaux de carotène β (517, 485, 451 m μ dans CS₂).

(1) Nous remercions ici M. le Professeur PEREZ de cet envoi.

VI. — Conclusions.

Nos résultats nous permettent de tirer des conclusions pour deux questions d'ordre général. La première concerne la *nature* des caroténoïdes des Animaux Inférieurs, la deuxième leur *origine*.

1) NATURE DES CAROTÉNOÏDES SPÉCIFIQUES DES ANIMAUX.

Jusqu'en 1931 on croyait connaître un seul caroténoïde animal, différent des caroténoïdes végétaux : la lutéine du jaune d'œuf de poule, obtenue à l'état cristallisé par WILLSTÄTTER et ESCHER en 1912. Or, en 1931 nous avons séparé la lutéine par adsorption chromatographique en deux xanthophylles végétales, la xanthophylle des feuilles et la zéaxanthine (pigment du maïs jaune) (KUHN, WINTERSTEIN et LEDERER). La lutéine du jaune d'œuf n'était donc pas un pigment animal. Nous nous sommes alors demandé, s'il existait vraiment des lipochromes animaux, différents de ceux des plantes. Cette question était d'autant plus justifiée que les recherches de ZECHMEISTER et TUSZON ont montré que les Animaux Supérieurs accumulent les caroténoïdes végétaux sans être capables de les transformer en d'autres pigments.

L'existence de lipochromes spécifiques des animaux a été ensuite démontrée par la découverte de l'*astacine* (KUHN et LEDERER, 7 ; KUHN, LEDERER et DEUTSCH) ; ce pigment, que VERNE avait cru être un isomère du carotène, est vraiment un caroténoïde animal spécifique : il a été trouvé chez de nombreuses espèces d'animaux, mais jamais jusqu'ici chez des plantes. Nous l'avions d'abord cru spécifique pour les Crustacés Décapodes (FABRE et LEDERER), mais KARRER et ses collaborateurs l'ont depuis trouvé dans un Echinoderme et une Eponge et nous l'avons obtenu ensuite à partir de deux Ascidies et de quatre Poissons. D'après BROCKMANN et VOELCKER, la tache juxta-oculaire du Faisan serait aussi colorée par l'*astacine*.

Autour de l'*astacine* se groupent quelques autres lipochromes qui lui sont apparentés en ce qu'ils ont *une seule bande d'absorption*. Ils sont énumérés dans la première partie du tableau III.

D'après ces résultats, acquis vers le milieu de 1934, on pouvait distinguer les lipochromes végétaux, montrant 3 bandes d'absorption et les lipochromes animaux du type de l'*astacine*, ne montrant qu'une seule bande d'absorption. On pouvait croire, que les nombreux pigments à trois bandes trouvés par différents auteurs dans les Animaux Inférieurs, n'étaient que des pigments végétaux.

Le présent travail montre que ce n'est pas exact. Car nous avons trouvé de véritables *xanthophylles animales*, c'est-à-dire

des caroténoïdes hydroxylés à trois bandes d'absorption, différentes des xanthophylles végétales connues jusqu'ici. Ce sont la pectenoxanthine, la cynthiaxanthine et la pentaxanthine.

Depuis, HEILBRON, JACKSON et JONES ont trouvé un corps analogue, la sulcatoxanthine. (Voir la deuxième partie du tableau III).

TABEAU III.

Les caroténoïdes spécifiques des animaux.

Pigment	Formule	Bandes d'absorption	Trouvé dans	Auteurs
1. — Pigments à une bande d'absorption.				
Astacine.....	$C_{40}H_{48}O_4$	500 m μ (pyridine)	Crustacés, Echinodermes, Eponges, Ascidies, Poissons.	KUHNET, LEDERER; KARRER et BENZ, FABRE et LEDERER
Acide astérinique..	$C_{40}H_{36}O_6$	480 m μ (pyridine)	<i>Asterias rubens</i>	EULER, HELLS-TRÖM et KLUSMANN
Actinioérythrine...	—	550 m μ (alcool)	<i>Actinia equina</i>	FABRE et LEDERER, HEILBRON, JACKSON et JONES
Glycymérine.....	—	495 m μ (CS ₂)	<i>Pectunculus glycymeris</i>	FABRE et LEDERER
Echinénone.....	$C_{40}H_{38}O$	488 m μ (CS ₂)	<i>Strongylocentrotus lividus</i>	LEDERER (13)
2. — Pigments à plusieurs bandes d'absorption.				
Actinioérythrine ..	—	574, 533, 495 m μ (CS ₂)	<i>Actinia equina</i>	FABRE et LEDERER, HEILBRON, JACKSON et JONES
Pectenoxanthine ..	$C_{40}H_{34}O_3$	518, 488, 454 m μ (CS ₂)	<i>Pecten maximus</i>	LEDERER (5, 6)
Sulcatoxanthine...	$C_{40}H_{32}O_8$	516, 482, 450 m μ (CS ₂)	<i>Anemonia sulcata</i>	HEILBRON, JACKSON et JONES
Cynthiaxanthine ..	—	517, 483, 451 m μ (CS ₂)	<i>Halocynthia papillosa</i>	LEDERER (9)
Pentaxanthine	$C_{40}H_{36}O_5$	506, 474, 444 m μ (CS ₂)	<i>Strongylocentrotus lividus</i>	LEDERER (13)

SPÉCIFICITÉ. — Nous pouvons encore constater un fait curieux. Dans aucun des animaux étudiés (exception faite de *Botryllus* et *Microcosmus*), dans aucune des nombreuses fractions que nous en avons obtenu, nous n'avons trouvé de xanthophylles végétales, sauf peut-être par traces. Ceci est d'autant plus étonnant que les animaux marins devraient avoir assez d'occasion

d'absorber avec leur nourriture les xanthophylles des algues (lutéine, zéaxanthine, taraxanthine, fucoxanthine (voir HEILBRON et PHIPERS, HEILBRON, PARRY et PHIPERS ; KARRER, RÜBEL et STRONG). Il y a donc une spécificité très marquée qui élimine entièrement les xanthophylles végétales.

Rappelons que ZECHMEISTER, TUSZON et ERNST ont constaté que la paroi de l'intestin du Cheval ne laisse passer que les carotènes et retient quantitativement les xanthophylles. Peut-être un mécanisme analogue joue-t-il chez les Animaux Inférieurs, peut-être aussi transforment-ils ces pigments en caroténoïdes spécifiques (voir plus loin, p. 61).

Retenons encore un trait caractéristique du métabolisme des lipochromes des Animaux Inférieurs. La plupart des espèces n'ont qu'un seul groupe de caroténoïdes. Ainsi nous pouvons distinguer trois groupes d'animaux : 1) Les espèces dont les pigments sont surtout épiphasiques (hydrocarbures et pigments mono-oxygénés) ; c'est le cas des Éponges *Suberites* et *Ficulina*. 2) Les espèces dont les pigments sont surtout hypophasiques (xanthophylles avec 2 à 8 atomes d'oxygène) ; nous y comptons *Pecten*, *Strongylocentrotus*, *Botryllus*, *Microcosmus*, *Anemonia*. 3) Les espèces dont l'astacine est le pigment principal ; l'astacine y est seule (*Beryx*, *Calanus*) ou accompagnée de carotène (Crustacés, *Carassius*) ou d'une xanthophylle (*Halocythia*).

Le fait qu'une certaine espèce ne contient qu'un seul groupe de lipochromes peut être constaté aussi du reste chez les plantes qui synthétisent ces pigments (p. ex. Carotte et Tomate : hydrocarbures ; fleurs jaunes : esters de xanthophylles ; *Crocus*, *Bixa* : acides) et aussi chez les Vertébrés Supérieurs, qui, eux, ne les synthétisent pas. Ce fait qui, du reste, attend encore une explication, ne peut donc pas être un argument pour ou contre l'origine synthétique des lipochromes chez les Animaux Inférieurs.

NATURE CHIMIQUE. — En ce qui concerne la nature chimique des lipochromes spécifiques des animaux, remarquons qu'ils ont des traits communs : ce sont des *corps oxygénés, ayant 40 atomes de carbone* (au moins ceux que l'on a pu analyser) et — comme nous voulons le démontrer — la plupart, sinon tous, sont des *cétones*.

KARRER et HÜBNER, ainsi que KARRER et LOEWE ont trouvé que l'*astacine* est une tétracétone, dont deux groupes cétoniques sont facilement énolisables et sont la cause du caractère acide de ce pigment. La bande unique d'absorption de l'astacine, si singulière pour les caroténoïdes est donc le résultat des groupements cétoniques. HEILBRON et LYTHGOE ont confirmé ce fait dans leur étude sur la myxoxanthine (voir p. 46).

Nous pouvons donc conclure par analogie, que les autres caroténoïdes n'ayant qu'une seule bande d'absorption sont également

des *cétones*. Ils sont énumérés dans la première partie du tableau III.

Restent encore les pigments à plusieurs bandes d'absorption, cités dans la deuxième partie du tableau III.

Or, la pectenoxanthine et la pentaxanthine appartiennent aux xanthophylles donnant avec le réactif de GRIGNARD (dosage de ZÉRÉVITINOV) un nombre de molécules de méthane inférieur au nombre d'atomes d'oxygène. Le tableau suivant illustre ce fait.

Xanthophylle	Atomes d'oxygène	Atomes de méthane	Auteurs
Pectenoxanthine	3	2	LEDERER (5, 6)
Violaxanthine.....	4	3	KARRER et MORF
Taraxanthine	4	3	KUHN et LEDERER (3)
Pentaxanthine	5	4	LEDERER (13)
Fucoxanthine.....	6	4	HEILBRON et PHIPERS

Les données analytiques concernant la cynthiaxanthine et la sulca-toxanthine manquent à l'heure actuelle.

Bien que cela ne soit prouvé pour aucun de ces corps, il est très probable que l'atome d'oxygène qui ne réagit pas avec le réactif de GRIGNARD forme un groupe cétonique ne réagissant pas du tout ou très difficilement avec les réactifs cétoniques habituels. Pour la fucoxanthine HEILBRON et PHIPERS discutent en effet une formule contenant 4 groupes hydroxyles et deux groupes cétoniques. Comme en outre on ne connaît pas jusqu'ici de caroténoïdes naturels ayant un atome d'oxygène éthéré, il ne reste guère d'autre possibilité que la présence de groupements cétoniques.

Nous avons donc de bonnes raisons pour penser que la plupart ou même tous les caroténoïdes spécifiques des animaux ont des groupements *cétoniques* ; un grand nombre d'entre eux a, en outre, des groupes *hydroxyles* ; il n'y a pas d'*hydrocarbures spécifiques des animaux*.

2) L'ORIGINE DES CAROTÉNOÏDES SPÉCIFIQUES DES ANIMAUX INFÉRIEURS.

La découverte de caroténoïdes spécifiques des animaux pose la question de leur origine. On peut la concevoir de deux façons : soit qu'il s'agisse d'une transformation des caroténoïdes de la nourriture, soit d'une synthèse à partir de corps incolores. Nous pensons que ces deux modes de formation ont lieu.

A) *Transformation des caroténoïdes de la nourriture.*

Nous avons déjà constaté que les caroténoïdes spécifiques des animaux sont tous des corps oxygénés et, pour la plupart, des cétones. On peut donc facilement imaginer qu'ils soient formés par oxydation de caroténoïdes végétaux. Ceci n'exclut pas la possibilité de changements ultérieurs, tels que déplacements de doubles liaisons, déshydrogénations, etc.

Dans trois cas cette transformation a été mise en évidence plus ou moins clairement.

Le premier concerne le pigment des plumes du Canari. BROCKMANN et VOELCKER ont montré que ce pigment est un caroténoïde spécifique du Canari (« xanthophylle de Canari ») et que l'organisme de ces oiseaux le forme à partir de la lutéine de la nourriture.

Le deuxième concerne les Actinies. M. et R. ABELOOS-PARIZE ont constaté que les Actinies rouges (*Actinia equina*) se décolorent quand leur nourriture est dépourvue de caroténoïdes. Après avoir absorbé des œufs de crustacés (contenant astacine et carotène) ces animaux ont repris leur coloration naturelle. Or nous savons maintenant qu'elle est due à un pigment spécifique, l'actinioérythrine. (FABRE et LEDERER ; HEILBRON, JACKSON et JONES). La transformation d'un ou de plusieurs caroténoïdes de la nourriture paraît, ici aussi, évidente.

Le troisième cas est moins certain. TEISSIER a montré que les œufs de Daphnies (*Daphnia pulex*) se colorent seulement quand leur nourriture contient du carotène. Or le pigment des œufs est un chromoprotéide vert, contenant un caroténoïde rouge ou orange, que nous pensons être de l'astacine ou un autre pigment différent du carotène ; on n'a jamais trouvé jusqu'ici de carotène lié en un tel complexe (1).

B) *Synthèse à partir de corps incolores.*

La synthèse de caroténoïdes par les Animaux Inférieurs à partir de corps incolores n'a pas encore été prouvée par des expériences concluantes. Pourtant plusieurs essais montrent qu'il est naturel d'envisager cette possibilité.

Les travaux de VERNE et de LWORF semblent indiquer qu'il y a chez les Crustacés deux sortes de caroténoïdes. L'un, lié le plus souvent sous forme d'un chromoprotéide, paraît être d'origine endogène ; sa formation ne semble pas être influencée par la richesse de la nourriture en caroténoïdes ; l'autre, est exogène et disparaît quand la nourriture ne contient pas de lipo-

(1) Récemment, WALD paraît avoir démontré la synthèse de l'astacine dans l'embryon de la Poule.

chromes. Nous pouvons identifier le premier avec l'astacine, le deuxième avec le carotène.

Ce dualisme paraît très nettement ressortir des expériences de BROWN sur l'influence de la lumière sur la pigmentation de *Palaemonetes*. Le pigment rouge (l'astacine) et son chromoprotéide bleu disparaissent rapidement quand les animaux sont maintenus à la lumière sur un fond blanc. Ces pigments se forment au contraire quand les animaux vivent à la lumière sur un fond noir. Le pigment jaune (carotène) est moins influencé par la lumière. La synthèse ou au moins l'excrétion de l'astacine et du chromoprotéide bleu par les chromatophores paraît hors de doute ici, puisque la teneur de la nourriture en caroténoïdes n'influence pas ce mécanisme.

Nous pensons, qu'en descendant dans l'échelle des animaux, la synthèse de caroténoïdes à partir de corps incolores devient de plus en plus fréquente.

QUATRIÈME PARTIE.

SUR LES CAROTÉNOÏDES DES CRYPTOGRAMES.

a) INTRODUCTION.

En dehors de nombreuses observations spectroscopiques sur des extraits bruts il n'y avait jusqu'ici dans le domaine des caroténoïdes des Cryptogames que les travaux sur la fucoxanthine, $C_{40}H_{56}O_2$, xanthophylle spécifique des algues brunes (WILLSTÄTTER et PAGE ; KARRER, HELFENSTEIN, WEHRLI, PIEPER et MORF ; HEILBRON et PHIPERS).

Nous nous sommes donné comme tâche d'étudier d'après les méthodes modernes, les lipochromes des Cryptogames terrestres, pour voir, s'ils contiennent les mêmes pigments que les Phanérogames. Cette étude nous a fait découvrir quelques caroténoïdes nouveaux ; la difficulté d'obtenir des quantités suffisantes de matière première, a jusqu'ici limité nos résultats en ce qui concerne la nature chimique de ces corps.

Depuis la publication préliminaire de nos résultats (LEDERER 3, 8), KARRER et SOLMSEN ont consacré trois mémoires très intéressants à l'étude des caroténoïdes de quelques Bactéries de pourpre (principalement *Thiocystis* et *Rhodovibrio*). Les auteurs ont constaté que le pigment de ces micro-organismes est un mélange très compliqué de différents caroténoïdes inconnus jusqu'ici. Ils ont pu les séparer par adsorption et sont ainsi arrivés à isoler 5 nouveaux corps auxquels ils ont donné les noms de rhodovibrine, rhodopine, rhodoviolascine, rhodopurpurine et flavorhodine. Le fait que tous ces corps sont épiphasiques est particulièrement intéressant. Néanmoins ce ne sont pas des hydrocarbures et ils contiennent un atome d'oxygène ; la rhodoviolascine en contient même deux sous forme de groupes méthoxyles. Ce pigment est donc le premier représentant d'un nouveau groupe de caroténoïdes : des caroténoïdes étherifiés. Pour caractériser les 5 nouveaux pigments nous donnons ci-dessous un tableau de KARRER et SOLMSEN (3).

Tous ces pigments sont si difficiles à séparer, que les auteurs doutent encore les avoir obtenu à l'état absolument pur. Pour nous, l'intérêt principal de ces corps consiste dans la grande

similitude de quelques-uns d'entre eux avec les pigments que nous avons observé dans *Torula* et *Lycogala*.

Nous reviendrons en détail sur ce point (voir p. 68).

Première adsorption			Après purification	
Zone	Couleur	Absorption dans CS ₂	Pigment	Absorption dans CS ₂
1.	brun-rouge	548 510 m μ	Rhodovibrine	556, 517 m μ
—	—	—	Rhodopine	547, 508 m μ
2.	rouge saumon	560 530 m μ	Rhodoviolascine	573, 534 m μ
3.	rouge	552 512 m μ	Rhodopurpurine	550, 511 m μ
4.	jaune foncé	520 487 m μ	Carotène β ?	521, 485 m μ
5.	jaune clair	503 469 m μ	Flavorhodine	502, 472 m μ

Citons encore une note de SCHOPFER dans laquelle l'auteur décrit l'obtention de carotène β à partir du mycélium de *Phycomyces blakesleanus*.

Récemment TISCHER s'est occupé du pigment des Algues vertes *Trentepohlia* et y a trouvé du carotène. Ses résultats coïncident assez bien avec les nôtres (voir p. 73).

Rappelons enfin le mémoire de HEILBRON et LYTHGOE sur les caroténoïdes des myxophycées dont nous avons parlé en détail plus haut (voir p. 46).

b) PARTIE SYSTÉMATIQUE.

I. — Ascomycètes.

23. *Polystigma rubrum*.

Ce champignon forme des taches brun-rouges sur des feuilles vertes de Phanerogames. Le pigment consiste d'après ZOPF en deux caroténoïdes, l'un jaune, l'autre rouge ; nous avons trouvé que le premier ressemble beaucoup à la lycoxanthine ; le deuxième a un caractère acide et possède deux bandes d'absorption à 550 et 515 m μ dans CS₂.

ESSAIS. — Nous avons à notre disposition quelques feuilles sèches sur lesquelles se trouvaient des colonies de *Polystigma rubrum*. Nous en avons découpé les taches rouges et les avons traité par l'acétone. Le solvant s'est coloré en orange. Après addition d'eau le pigment passe dans l'éther de pétrole ; il y est entièrement épiphasique. Après saponification il reste dans l'éther de pétrole un pigment épiphasique

qui est adsorbé sur l'alumine sous forme d'une zone rouge-violette. Son spectre d'absorption est celui du lycopène et de ses oxydes (507,471 m μ dans l'éther de pétrole, 546,507 m μ dans CS₂). En adsorbant un mélange de lycopène de tomate et de ce pigment épiphasique de *Polystigma* sur de l'alumine nous avons obtenu deux zones dont l'inférieure correspondait au lycopène. Le pigment de *Polystigma* se comporte donc comme la lycoxanthine de ZECHMEISTER et CHOLNOKY (3), qui est un lycopène portant un groupe hydroxyle. D'autre part ce corps n'est pas identique à la lycophylle (dihydroxy-lycopène) puisque celle-ci est insoluble dans l'éther de pétrole.

L'alcool alcalin obtenu après saponification ne contenait pas de xanthophylles mais un caroténoïde acide avec des bandes d'absorption à 516, 485 m μ (dans l'éther de pétrole) et 550, 515 m μ (dans CS₂). Dans les deux solvants les bandes étaient peu précises.

II. — Schizomycètes.

Les Levures de bière et de boulangerie sont en général dépourvues de caroténoïdes. Seules les *Torulas*, les levures rouges, en contiennent, comme ZOPF l'a déjà constaté en 1889. Plus tard CHAPMAN (1916) a essayé sans succès de purifier leur pigment et a trouvé que le spectre d'absorption diffère de celui du carotène.

Nous avons trouvé que la matière colorante de *Torula rubra* consiste en quatre caroténoïdes différents ; nous en avons obtenu deux à l'état cristallisé.

L'un de ces pigments est identique au carotène β , d'après son spectre d'absorption (521,484,451 m μ dans CS₂) ainsi que d'après son adsorbabilité, d'après la forme et le point de fusion de ses cristaux (180°).

L'autre pigment cristallisé n'est identique à aucun des caroténoïdes connus jusqu'ici. Nous avons proposé pour ce nouveau pigment le nom de *torulène* (LEDERER, 3). Son spectre d'absorption montre quatre bandes dans la partie visible du spectre (556, 522, 491, 461 m μ dans CS₂ et 523, 491, 460, 430 m μ dans l'éther de pétrole et dans l'alcool absolu). Les cristaux de torulène se décomposent à 180°. Ils ont la solubilité des hydrocarbures.

Le troisième pigment, également dans la fraction des hydrocarbures se décompose facilement et n'a pas été obtenu à l'état pur.

Le quatrième pigment de *Torula* a des propriétés acides et se rapproche ainsi de l'astacine ; il est cependant beaucoup plus foncé ; il montre des bandes d'absorption assez vagues à 583, 543, 500 m μ dans CS₂ et à 530, 494, 460 m μ dans l'éther de pétrole et dans le méthanol. Dans les essais de purification ce corps suit les acides gras, desquels il est très difficile à séparer.

Depuis la parution de notre note préliminaire sur ces 4 caroténoïdes (LEDERER, 3), FINK et ZENGER ont publié un mémoire sur le même sujet avec des photographies des cristaux de deux pigments. Dans ce travail les auteurs confirment en général nos données ; mais, n'ayant pas séparé les pigments par adsorption, ils n'en ont trouvé que deux et leurs préparations ne sont pas pures. Comme ils disent avoir obtenu le torulène sous forme de cristaux de couleur « jaune-orangée », nous pensons qu'il s'agit de carotène β mélangé avec un peu de torulène : nos cristaux de torulène sont violet-foncés. La forme des cristaux de FINK et ZENGER rappelle en effet d'une manière frappante celle des cristaux de carotène β photographiés par KUHN et LEDERER (2). Quant aux cristaux du pigment acide, FINK et ZENGER disent n'avoir pas pu les obtenir à chaque essai.

24 a. *Torula rubra* (Institut Pasteur).

Cette levure a été cultivée sur de l'eau de touraillons préparée de la manière suivante : on fait bouillir pendant 20 minutes une poignée de racines d'orge dans 1 litre d'eau, puis on y ajoute 100 g. de saccharose, 1 g. d'acide tartrique, 1 g. de peptone, 2 g. de phosphate d'ammonium et 0 g.,5 de sulfate de magnésium. Après dissolution on en verse 500 cm³ dans un ballon Fernbach de 1 litre et le stérilise à 120°. On ensemence après refroidissement et garde les flacons pendant 2 semaines à 27° ; puis enfin, on les expose à la lumière diffuse du jour pour augmenter la coloration (1).

On centrifuge la levure et traite la masse rouge d'abord avec de l'acétone à 70 p. 100 pour plasmolyser les cellules. Par plusieurs extractions avec de l'acétone pure on dissout tout le pigment ; le liquide se colore en rouge foncé. Par addition d'eau on fait passer le colorant dans l'éther de pétrole ; on lave ce solvant avec de l'eau et l'agite ensuite avec du méthanol à 90 p. 100. Ce dernier solvant ne se colore pas ; il n'y a donc pas de xanthophylles. On saponifie, par addition de potasse alcoolique et d'autant d'alcool absolu qu'il est nécessaire pour obtenir une solution homogène. Après 5 heures on ajoute de l'eau ; l'alcool alcalin se colore en rouge-cerise, l'éther de pétrole en rouge. On saponifie une deuxième fois et lave l'éther de pétrole avec de l'eau. On le concentre à un petit volume et le place à la glacière. Après un jour on en sépare les stérols par filtration. Ensuite on fait passer le filtrat des stérols à travers une colonne d'alumine. Trois zones différentes se forment. La première est violette, la deuxième, rouge-foncée, est la plus large ; la troisième est orange et passe après lavage, dans le filtrat. Nous avons élué les deux premières zones avec de l'éther de pétrole contenant un peu de méthanol et avons concentré les éluats à un petit volume.

(1) Nous remercions le Professeur SCHOEN d'avoir fait faire ces cultures pour nous dans son service.

La première fraction donne un précipité de matière incolore et ne montre pas de spectre d'absorption ; nous n'avons pas pu la faire cristalliser. C'est peut-être un corps très instable.

La deuxième fraction dépose à la glacière des cristaux violets foncés de *torulène*, que nous avons recristallisés en les dissolvant dans du benzène et en y ajoutant du méthanol. Le spectre d'absorption de ce pigment a été décrit plus haut (voir fig. 10).

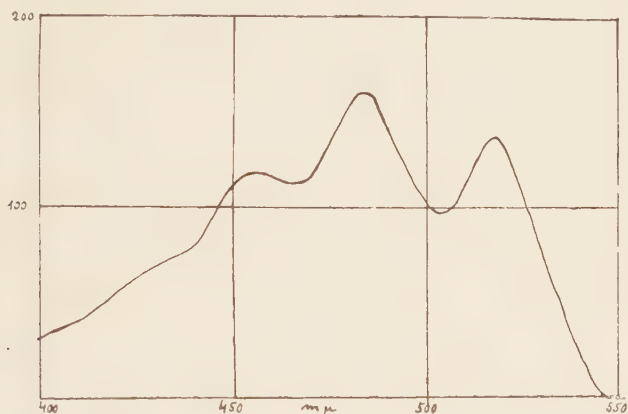


FIG. 10. — Spectre d'absorption du torulène dans l'hexane.

Le filtrat concentré à quelques cm³ est gardé pendant deux jours à la glacière ; il dépose des cristaux rouges de carotène β ; après recristallisation à partir de benzène et de méthanol leur point de fusion est à 180°.

Quand on acidifie l'alcool alcalin contenant le quatrième pigment son colorant passe dans l'éther de pétrole. L'astacine cristallise d'habitude à partir d'une telle solution ; cependant le pigment acide de *TORULA* se trouve accompagné d'une telle quantité d'acides gras qu'il ne cristallise pas. Nous avons essayé d'en obtenir des cristaux en concentrant l'éther de pétrole et en y ajoutant de l'acétone ; il se forme un précipité volumineux et presque incolore ; nous l'avons centrifugé et lavé avec de l'acétone. L'eau-mère du précipité donne encore après concentration un précipité presque incolore ; l'eau-mère de ce deuxième précipité ne donne pas de cristaux.

L'acidité de ce pigment amène à penser que, comme l'astacine, il contient des groupes cétoniques. Nous avons essayé de les mettre en évidence à l'aide du réactif de GIRARD (GIRARD et SANDULESCO), mais nous n'y sommes pas parvenus : le pigment se décompose quand on le chauffe avec le réactif T.

A partir de 150 litres d'eau de touraillons nous avons obtenu 70 g. de levure (poids sec) ; ceci nous a fourni environ 2 mg. de carotène β et 2 mg. de torulène.

CONSTITUTION DU TORULÈNE. — Les travaux de KARRER et SOLMSEN (2, 3) cités plus haut nous donnent quelque idée de la constitution du torulène. Parmi les pigments qu'ils décrivent la rhodoviolascine nous intéresse spécialement. Le tableau suivant donne une comparaison entre les spectres d'absorption de ce pigment, de celui du torulène et de celui de deux fractions obtenues à partir des sporangies de *Lycogala epidendron* (v. p. 74).

Pigment	Bandes d'absorption dans CS ₂
Rhodoviolascine	573, 534 mμ
Zone I de <i>Lycogala</i>	572, 531 mμ
Zone II de <i>Lycogala</i>	566, 523 mμ
Torulène	566, 522 mμ

Les sporangies de *Lycogala* contiennent en effet deux pigments épiphasiques qui forment sur l'oxyde d'aluminium deux zones violettes très rapprochées. Le spectre d'absorption de la zone I est identique à celui de la rhodoviolascine, celui de la zone II à celui du torulène.

Les deux pigments de *Lycogala* sont sans doute des corps très voisins (sinon isomères) puisque leurs zones d'adsorption sont de même couleur et très rapprochées. Si l'on admet l'identité du pigment I et de la rhodoviolascine et du pigment II avec le torulène, on en déduit que le torulène est très voisin (sinon isomère) de la rhodoviolascine.

KARRER et SOLMSEN [3] proposent pour la rhodoviolascine la formule ci-dessous (p. 69).

Elle est basée sur les faits suivants : la formule brute est C₄₂H₆₀O₂ ; il y a 2 groupes méthoxyles et 13 doubles liaisons ; l'oxydation à l'ozone donne une molécule d'acétone. Une comparaison des spectres de la rhodoviolascine et du lycopène fait supposer que les 13 doubles liaisons de celle-ci sont conjuguées.

Le torulène est plus clair que la rhodoviolascine : la différence des bandes d'absorption est de 7 mμ (dans CS₂). Cette différence est trop petite pour être due à une différence dans le nombre des doubles liaisons. Il nous semble plus probable qu'elle soit due au fait qu'un bout de la chaîne du torulène soit fermé et forme un anneau de ionone β. On arriverait ainsi à la formule suivante pour le torulène :

La formation d'un anneau de ionone à partir d'une chaîne ouverte (transformation du lycopène en carotène γ et de celui-ci en carotène β) s'accompagne en effet d'un changement d'absorption dans le sens indiqué.

La formule ci-dessus est bien entendu purement hypothétique et attend une vérification expérimentale que nous n'avons pas pu faire jusqu'ici faute de matériel.

24 b. *Torula rubra* (Schimon).

Il était intéressant de voir si des *Torula* rouges provenant de différentes souches contiennent les mêmes pigments. L'étude d'une *Torula* provenant de l'Institut de Brasserie de Weihens-
tephan, près de Munich, que nous devons à l'amabilité de M. FINK, nous a montré qu'elle contient les mêmes pigments que la *Torula* de l'Institut Pasteur.

Nous avons fait la culture de ce micro-organisme, l'extraction et la saponification, de la manière décrite ci-dessus. Nous avons ensuite adsorbé la fraction des hydrocarbures sur de l'alumine. Il y avait les mêmes trois zones observées auparavant et correspondant aux mêmes pigments. La première zone, contenant le pigment instable et ne montrant pas de spectre d'absorption, était précédée par une zone mince dont le pigment montrait les bandes suivantes : 513, 483, 453 m μ (dans l'éther de pétrole). La deuxième zone nous a donné par la méthode décrite ci-dessus des cristaux de torulène fondant à 183-185°, bandes d'absorption dans CS₂ à 564, 523, 491, 459 m μ ; avec le trichlorure d'antimoine dans le chloroforme on obtient une solution bleue avec une bande forte à 657 m μ et une plus faible à 435 m μ .

La troisième fraction cristallisait facilement et avait les propriétés du carotène β .

Le pigment acide montrait le même spectre d'absorption que celui décrit pour le pigment correspondant de notre première *Torula* ; sa solution dans le chloroforme donnait avec le trichlorure d'antimoine une belle coloration bleue qui montrait une large bande d'absorption à 620 m μ ; la couleur bleue et la bande ont disparu en 3 minutes.

25. *Sporobolomyces roseus*. (Kluyver).

Nous devons une culture de cette levure à l'amabilité de M. GUILLIERMOND que nous tenons à remercier encore une fois ici. JANSSENS et MERTENS se sont déjà occupé en 1903 de ce micro-organisme ; ils ont trouvé que son pigment, qui ressemblait aux caroténoïdes, était très difficile à extraire. Il fallait bien sécher la matière et la traiter avec du sulfure de carbone pour obtenir un liquide coloré.

Nous avons trouvé qu'une partie du pigment est soluble dans l'acétone et dans le méthanol, une autre partie sous les conditions décrites par JANSSENS et MERTENS. Nous n'avons pas pu extraire complètement le pigment. Il se compose de deux caroténoïdes : le torulène et le pigment acide de *Torula*.

ESSAIS. — Nous avons cultivé le *Sporobolomyces* sous les mêmes conditions que la *Torula rubra*. Après centrifugation nous avons traité la masse rouge avec de l'acétone à 70 p. 100 pour essayer de plasmolyser les cellules, puis avec de l'acétone pure. La couleur s'éclaircit alors notablement. Nous croyons que le solvant détruit une liaison

adsorptive du pigment. L'acétone dissout une petite partie du colorant seulement. Nous avons ensuite traité la levure par le méthanol ; le premier extrait est bien coloré, le troisième déjà incolore. La levure reste colorée en rose. Nous avons alors réuni les extraits colorés, y avons ajouté de l'eau et avons fait passer le pigment dans l'éther de pétrole. Il n'y a pas de xanthophylles. Après saponification l'éther de pétrole retient un pigment qui est bien adsorbé sur de l'alumine sous forme d'une mince zone rouge-foncé et qui montre les bandes d'absorption du torulène : 563, 521, 490 m μ dans CS₂ et 523, 490, 458 m μ dans l'éther de pétrole.

L'alcool alcalin provenant de la saponification est coloré en rouge saumon ; par addition d'eau et d'éther de pétrole le pigment précipite sous forme de flocons roses ; après acidification par l'acide acétique dilué le pigment passe dans l'éther de pétrole. Son spectre d'absorption dans le méthanol alcalin présente des bandes à 531, 495, 461 m μ .

26. *Sporobolomyces salmonicolor* Kluyver.

Cette espèce contient les mêmes pigments que *Sp. roseus* ; ils sont également très difficiles à extraire et passent en partie seulement en solution dans l'acétone.

III. — Basidiomycètes.

1. URÉDINÉES.

BERTRAND et POIRAULT, ainsi que MÜLLER ont déjà constaté que les spores des Urédinées contiennent des caroténoïdes dont on peut provoquer la cristallisation dans les cellules. Jusqu'ici on n'a pas encore identifié les pigments en question ; d'après BACHMANN il s'agirait de carotène.

Nous nous sommes occupé des urédospores de deux Urédinées et avons trouvé du carotène α , β et γ et un pigment acide dans *Puccinia coronifera* et les trois carotènes également dans *Coleosporium senecionis*.

27. *Puccinia coronifera*.

ESSAIS. -- Nous avons détaché les urédospores de *Puccinia coronifera* des feuilles d'*Avena sativa* et avons ainsi obtenu 200 mg. d'une poudre orange. Le premier extrait acétonique est vert et contient des pigments des parties de feuilles d'*Avena* mélangés aux urédospores. Le deuxième extrait acétonique est incolore et la poudre est restée colorée en orange. Son pigment passe en partie en solution quand on le traite par le chloroforme. Nous avons évaporé le solvant et avons repris le résidu par l'éther de pétrole. Il ne s'y trouve que 1 γ de xanthophylles. Après saponification l'alcool alcalin est rougeâtre, l'éther de pétrole jaune.

Nous avons filtré cette dernière solution sur de la chaux ; il se forme une zone rouge (491, 458, 430 m μ dans l'éther de pétrole) contenant 80 γ de carotène γ ; le filtrat est jaune et contient 50 γ de carotène $\alpha + \beta$ (481, 450 m μ).

Le pigment passé dans l'alcool alcalin précipite sous forme de flocons roses par addition d'eau ; ces flocons sont insolubles dans l'éther de pétrole et représentent évidemment un sel du pigment. Après acidification par l'acide acétique dilué le pigment devient soluble dans l'éther de pétrole. La teinte de cette solution est rouge-orange, celle de la solution dans CS₂ violette. Nous n'avons pas pu en déterminer exactement le spectre d'absorption, mais la couleur des solutions de ce pigment acide est très foncée et rappelle celle du pigment acide de *Torula*.

28. *Coleosporium senecionis*.

ESSAIS. — Nous avons détaché 20 mg. d'urédospores des feuilles de seneçon et les avons traité par le méthanol ; ce premier extrait est vert ; nous l'avons rejeté ; en traitant les spores par le chloroforme, leur pigment passe en solution ; la plus grande partie se retrouve après saponification dans l'éther de pétrole. Nous l'avons filtré sur de l'alumine ; il se forme une zone rouge (490, 458 m μ dans l'éther de pétrole) correspondant au carotène γ (3 γ) et, en-dessous, une zone jaune (482, 450 m μ) correspondant au carotène $\alpha + \beta$ (3 γ). Etant donné la petite quantité de matière première dont nous disposions, nous ne pouvons pas dire avec certitude qu'il y ait ou non d'autres caroténoïdes.

2. TREMELLINÉS.

29. *Tremella mesenterica*.

ESSAIS. — Ce champignon (dont nous avons trouvé un échantillon sec au mois d'avril en Touraine) est coloré en rouge brique et cède facilement son pigment à l'acétone. De là on peut le faire passer dans l'éther de pétrole ; il est épiphásique même après saponification. Par adsorption sur de l'alumine il se forme une zone orange homogène (483, 452 m μ dans l'éther de pétrole) ; c'est du carotène β .

30. *Aleuria aurantia*.

Un échantillon séché de cette plante (trouvé en octobre aux environs de Vienne, Autriche) ne cédait pas de pigment à l'acétone. Il a fallu le faire gonfler dans l'eau, puis le traiter par l'acétone pour en extraire le pigment. L'acétone cède son pigment à l'éther de pétrole ; il n'y a que des traces de xanthophylles et d'esters de xanthophylles. Nous avons filtré sur de la chaux l'éther de pétrole qui retient tout le pigment après saponification ; il se forme les 5 zones suivantes :

Numéro	Couleur	Spectre d'absorption dans l'éther de pétrole	Nature du pigment
1.	jaune	imprécis	produit décomposé
2.	rouge	—	— ?
3.	violet	490, 458 m μ	rubixanthine ?
4.	orange	492, 459 m μ	carotène γ
5.	orange	487, 456 m μ	carotène β

Nous voyons qu'il y a un mélange assez complexe de corps épiphasiques ; remarquons la présence du carotène γ qui est fréquente chez des Bactéries (CHARGAFF, CHARGAFF et LEDERER).

IV. — Chlorophycés.

31. *Trentepohlia aurea*.

Cette algue « verte » (que nous avons trouvé en août sur des roches dans les Basses-Pyrénées) forme des masses orangées. ZOFF a étudié leur pigment et rapporte qu'il s'agit de carotène. Nous pouvons confirmer ses observations et nous précisons que c'est du carotène β . Ce lipochrome est accompagné d'un peu de chlorophylle et d'un pigment jaune, qui vire au violet par addition de soude ; c'est probablement une oxychinone.

Dans son mémoire détaillé sur les caroténoïdes de *Trentepohlia iolithus* et *Trentepohlia aurea*, TISCHER décrit l'isolement d'un mélange de carotène α et β . Avec 2 kg. de *Trentepohlia iolithus* il a obtenu 2 g.,2 de carotène, quelques cristaux de lutéine et des traces de zéaxanthine. Nous pensons que ces xanthophylles ne sont pas des pigments de *Trentepohlia* mais proviennent de petites quantités d'impuretés mélangées avec les algues.

ESSAIS. — Nous avons traité par l'acétone 25 g. d'algues sèches ; le liquide se colore en un vert brunâtre. Par addition d'eau une partie du pigment passe dans l'éther de pétrole. L'acétone aqueuse est encore colorée en jaune verdâtre et contient le pigment virant au violet par addition de soude. L'éther de pétrole cède sa chlorophylle à l'alcool alcalin après saponification ; il n'y a presque pas de xanthophylles ni d'esters de xanthophylles. Nous avons filtré sur de l'alumine l'éther de pétrole contenant la fraction des hydrocarbures ; il se forme une zone orangée homogène. Nous en avons élué le pigment par de l'éther de pétrole contenant 1 p. 100 de méthanol ; après évaporation du solvant le résidu cristallise sous forme de rhomboédres rouges. Après deux recristallisations à partir du ben-

zène et du méthanol, nous avons obtenu 4 mg. de carotène β fondant à 179° (485, 454, 423 m μ dans l'éther de pétrole et 520, 482, 451 m μ dans CS₂ ; avec SbCl₃ dans CHCl₃ une bande à 590 m μ).

V. — Myxomycètes.

32. *Lycogala epidendron*.

Les sporangies de cette plante contiennent d'après ZOPF du carotène. Nous y avons trouvé deux pigments dont l'un ressemble beaucoup à la rhodoviolascine de KARRER et SOLMSEN et l'autre au torulène (voir aussi p. 68).

ESSAIS. — Nous avons trouvé des sporangies rouges sur du bois pourri (mois d'août, Massif Central) ; pour les conserver nous en avons gardé une partie telle quelle à sec, une autre dans une solution saturée de NaCl, une troisième dans de l'alcool à 90 p. 100 et une quatrième dans de l'essence de pétrole. Après un mois les deux premières parties avaient perdu leur pigment, tandis que les sporangies des autres parties étaient bien conservées. Elles cèdent leur colorant facilement à l'acétone et le colorent en brun-rouge. Le pigment passe dans l'éther de pétrole après addition d'eau et y reste même après saponification. Il est entièrement épiphasique. Nous avons filtré sa solution sur de l'alumine ; il se forme deux zones violettes ; le filtrat devient jaune et contient du carotène β (483, 456, 423 m μ dans l'éther de pétrole. Les bandes du pigment de la zone supérieure sont les suivantes : 572, 531, 500 m μ dans CS₂ et 528, 497, 465 m μ dans l'éther de pétrole ; il s'agit peut-être de la rhodoviolascine de KARRER et SOLMSEN. Le pigment de la zone inférieure est peut-être identique au torulène : bandes d'absorption à 556, 526, 493 m μ dans CS₂ et à 522, 491, 458 m μ dans l'éther de pétrole.

VI. — Bactéries.

Beaucoup de travaux sont consacrés aux caroténoïdes des Bactéries. Nous n'avons pas l'intention de les passer en revue ici et renvoyons le lecteur à l'excellent résumé de SOLMSEN ; il y cite 22 espèces de Bactéries contenant des caroténoïdes. Cependant il y a omis deux Bactéries acido-résistantes : le Bacille LOMBARDO-PELLEGRINI et le Bacille GRASSBERGER, étudiés par CHARGAFF et LEDERER. Le pigment du Bacille de la tuberculose qui figure sur sa liste n'est pas un caroténoïde, mais un dérivé de la naphthoquinone (phthiocol d'ANDERSON).

Les recherches sur les caroténoïdes des Bactéries ont montré que quelques espèces contiennent des pigments déjà connus par ailleurs, tandis que pour d'autres ils sont nouveaux et très intéressants.

Le tableau IV, composé selon les données de SOLMSEN, résume les résultats obtenus dans ce domaine.

TABLEAU IV.
Caroténoïdes des Bactéries.

Espèce	Pigment	Auteurs
<i>Coccaceae :</i>		
<i>Sarcina aurantiaca</i>	carotène β , zéaxanthine	READER, CHARGAFF
<i>Sarcina lutea</i>	safrinène	CHARGAFF et DIERYCK
<i>Micrococcus rhodochrous</i>	astacine ?	ZOPF, OVERBECK
<i>Micrococcus erythromyxa</i>	"	"
<i>Staphylococcus pyogenes aureus</i>	zéaxanthine	CHARGAFF
<i>Bacteriaceae :</i>		
<i>Bacterium chrysogloea</i> ..	astacine, zéaxanthine ?	ZOPF
<i>Bacterium egregium</i>	"	"
<i>Bacterium halobium</i>	bactériorubérine $\alpha + \beta$	PETTER
<i>Thiocystis</i>	lycopène, carotène flavorhodine	KARRER et SOLMSEN
<i>Desmobacteriaceae :</i>		
<i>Sphaerotilus roseus</i>	carotène γ ?	ZOPF
<i>Spirillaceae :</i>		
<i>Rhodovibrio</i>	rhodoviolascine, etc.	KARRER et SOLMSEN
<i>Bacillaceae :</i>		
<i>Rhodobacillus</i>	rhodoviolascine, etc.	KARRER et SOLMSEN
<i>Protoactinomycetaceae :</i>		
<i>Corynebactérium carotenum</i>	carotène β , xanthophylle	STEENBOCK et coll. CHARGAFF
<i>Mycobacterium phlei</i>	carotène $\beta + \gamma$, xanthophylle	CHARGAFF
<i>Mycobacterium leprae</i> ...	leprotène	GRUNDMANN et TAKEDA
<i>Bacillus Lombardo Pellegrini</i>	carotène $\beta + \gamma$, xanthophylle	CHARGAFF et LEDERER
<i>Bacillus Grassberger</i>	lycopène, carotène $\beta + \gamma$, xanthophylle	CHARGAFF et LEDERER
<i>Actinomycetaceae :</i>		
<i>Streptothrix corallinus</i> ...	coraline ?	READER

Nous allons décrire ici des essais sur le *Bacterium halobium* et sur *Sarcina lutea*. D'autres auteurs y avaient trouvé de nouveaux caroténoïdes ; nos résultats diffèrent quelque peu de leurs données.

33. *Bacterium halobium* (KLEBAHN).

PETTER a isolé le pigment de cette Bactérie qui forme des taches rouges sur des poissons salés. Elle a trouvé qu'il est un mélange de deux xanthophylles rouge-foncées qu'elle a obtenu à l'état cristallisé et nommé bactëriorubérine α et β . Les spectres d'absorption de ces deux corps sont les suivants :

bactëriorubérine α : 522, 490, 460 $m\mu$ dans le méthanol
bactëriorubérine β : 502, 482, 452 $m\mu$ dans le méthanol

En travaillant sur des Bactéries isolées par PETTER, nous n'y avons trouvé qu'une seule xanthophylle dont le spectre d'absorption rappelle plutôt celui de la bactëriorubérine α de PETTER.

ESSAIS. — La culture du *Bacterium halobium*, même sur le milieu de culture de PETTER, n'est pas aisée et le rendement minime. Nous disposions d'une dizaine de grammes de Bactéries. Nous les avons broyé avec du sable en présence d'acétone. Après plusieurs épuisements à l'acétone tout le pigment passe en solution. Il passe dans l'éther de pétrole après addition d'eau. Il est entièrement hypophasique et consiste donc en xanthophylles libres.

Pour saponifier des impuretés passées dans le méthanol à 90 p. 100 nous y avons ajouté quelques gouttes d'alcali concentré, puis, après quelques heures, de l'éther de pétrole et un peu d'eau. Le pigment cristallise rapidement et les cristaux se rassemblent sous la couche d'éther de pétrole.

Ces cristaux, violet-foncés sont insolubles dans l'éther de pétrole et assez peu solubles dans le benzène. En faisant passer une solution benzénique du pigment à travers une colonne de carbonate de calcium, tout le colorant est adsorbé dans la partie supérieure de la colonne. Nous avons obtenu le même résultat en adsorbant le pigment sur différentes préparations de carbonate de calcium avec le sulfure de carbone comme solvant.

Nous n'avons pas réussi ainsi à séparer le pigment en bactëriorubérine α et β . Il est difficile d'expliquer ce fait puisque PETTER avait séparé les deux xanthophylles en les adsorbant sur du carbonate de calcium avec le sulfure de carbone comme solvant.

Notre produit cristallisé avait les bandes d'absorption suivantes :

dans le méthanol : 528, 495, 460 $m\mu$; couleur rouge-brun
dans CS_2 : 571, 532, 498 $m\mu$; couleur violet

D'après son spectre d'absorption notre préparation ne contient pas de bactëriorubérine β et est même plus foncée que la bactëriorubérine α de PETTER. Son spectre d'absorption ressemble de très près à celui de la rhodoviolascine (573, 534 $m\mu$ dans CS_2). Peut-être notre pigment n'est-il rien d'autre qu'une rhodoviolascine diméthylée. Ceci expliquerait sa solubilité hypophasique.

34. *Sarcina lutea*.

Dans cette Bactérie CHARGAFF et DIERYCK ont trouvé deux caroténoïdes : un hydrocarbure et une xanthophylle ayant le même spectre d'absorption (462, 440, 415 m μ dans l'éther de pétrole). Ils ont nommé l'hydrocarbure, *sarcinène*. Nos résultats obtenus avec des Bactéries cultivées par CHARGAFF montrent que le pigment principal de *Sarcina* n'est pas l'hydrocarbure mais la xanthophylle. Nous l'avons obtenu à l'état cristallisé, mais non encore pur. L'« hydrocarbure », le *sarcinène* est très fortement adsorbé sur l'alumine et ceci nous fait douter que ce soit vraiment un hydrocarbure.

ESSAIS. — Nous avons broyé avec du sable 55 g. de Bactéries desséchées et les avons traité plusieurs fois avec de l'acétone, puis avec du méthanol. Le pigment passe très lentement en solution et les Bactéries restent colorées en jaune même après de nombreuses extractions. Après addition d'eau aux extraits jaunes, une petite partie seulement du pigment passe dans l'éther de pétrole. La fraction hypophasique une fois saponifiée, une partie du colorant passe dans l'éther de pétrole. La plus grande partie précipite sous forme de flocons jaunes. (Précipité A).

La fraction épiphasique a bien le spectre d'absorption du *sarcinène* et forme sur la partie supérieure d'une colonne d'alumine un anneau jaune. Après élution avec de l'éther de pétrole contenant un peu de méthanol nous avons évaporé l'éluat à 1 cm³. En refroidissant il s'est formé un précipité amorphe que nous n'avons pas réussi de purifier davantage.

Une solution dans l'éther de pétrole de la fraction des xanthophylles de *Sarcina lutea* forme une zone jaune-orange. En dessous de celle-ci une deuxième zone, peu importante et peu définie, contient probablement des produits de décomposition.

Le précipité A a été dissous dans 1/2 cm³ de pyridine, puis nous y avons ajouté quelques gouttes d'eau. Après quelques jours il s'est formé sur la paroi du tube à essais des aiguilles jaunes-oranges. (Spectre d'absorption : 462, 440 m μ dans l'éther de pétrole). La quantité de cristaux n'était pas suffisante pour une étude plus approfondie.

La xanthophylle, dissoute dans l'éther ne donne pas de coloration bleue avec l'acide chlorhydrique concentré.

C. — Conclusions.

Nos observations sur quelques espèces de champignons ont montré certaines règles en ce qui concerne la nature de leurs caroténoïdes.

1. Ils n'ont ni xanthophylles, ni esters de xanthophylles. Ceci est certainement remarquable, car ce groupe de caroténoïdes est un des plus répandu chez les autres Cryptogames et chez les

Phanérogames. Peut-être cette absence de xanthophylles chez les Champignons a-t-elle un rapport avec l'absence de chlorophylle.

2. La fraction des hydrocarbures contient presque toujours du carotène (α , β ou γ). Le carotène α s'y trouve assez rarement, le carotène β y est le plus fréquent.

3. Les carotènes sont souvent accompagnés de pigments épiphasiques plus insaturés parmi lesquels il faut surtout citer le *torulène*, pigment qui se rapproche de la rhodoviolascine que KARRER et SOLMSSEN ont extrait des Bactéries de pourpre.

4. Les caroténoïdes épiphasiques sont aussi souvent accompagnés d'un ou de plusieurs pigments acides, très foncés, qui rappellent l'astacine par leur solubilité. Nous n'avons pas trouvé l'astacine elle-même chez les champignons.

CINQUIÈME PARTIE. (ANNEXE).

LES CAROTÉNOÏDES DE VASE LACUSTRE.

BAUDISCH et EULER ont été les premiers à attirer l'attention sur la teneur en caroténoïdes de quelques dépôts géologiques tout à fait récents nommés en Suède « Gyttja ». Ils en distinguent deux sortes : le « Gyttja de détritits » et le « Gyttja de plancton ». Dans le premier ils ont trouvé presque exclusivement des xanthophylles, dans le deuxième au contraire seulement du carotène. Dans un gramme de cette terre ils ont trouvé 50 γ de carotène, caractérisé par son spectre d'absorption et sa solubilité.

Récemment le Professeur MOURAVEJSKI (Moscou) a trouvé des caroténoïdes dans la vase de certains lacs des environs de Moscou. Il en a mis aimablement à notre disposition trois échantillons que nous avons étudié de plus près. Ils contiennent tous les trois du carotène (jusqu'à 1 mg. pour 10 g. de matière sèche). L'échantillon n° 1 nous a donné du *carotène cristallisé* ; cela prouve qu'il s'agit bien de carotène inchangé. A côté du carotène deux pigments épiphasiques rappellent l'échinénone et la myxoxanthine (voir p. 46). Dans la fraction hypophasique se trouvaient plusieurs *xanthophylles* ; nous en avons obtenu *deux* à l'état *cristallisé*. Nous n'avons pas pu les identifier. En dehors des caroténoïdes il y a encore beaucoup de produits de décomposition de la chlorophylle.

Depuis, Fox (2) a trouvé le carotène α et β et des xanthophylles dans une vase marine provenant d'une profondeur de 2000 m. (1).

ESSAIS. — *Echantillon n° 1.* — En filtrant sur un buchner 1 kg.,5 de vase fraîche on a pu en enlever 500 g. d'eau. Le reste (contenant 125 g. de résidu sec) a été épuisé à froid 4 fois avec de l'alcool à 96 p. 100 (au total 3 litres) 5 fois avec de l'éther de pétrole (5 litres) et 4 fois avec de l'éther éthylique (3 litres). Les premiers extraits étaient vert-brun-foncés. Le dernier extrait était encore coloré en vert clair, mais nous n'avons plus voulu continuer l'extraction.

Fraction des hydrocarbures. — Après avoir fait passer dans l'éther de pétrole tout le pigment extrait par les différents solvants nous avons évaporé à 700 cm³ la solution vert-foncée ainsi obtenue et l'avons agité 4 fois avec 150 cm³ d'alcool éthylique à 80 p. 100. L'alcool s'est coloré en vert-foncé. Après saponification de la fraction épiphasique le reste du pigment vert est passé dans l'alcool alcalin

(1) Voir aussi le mémoire de KLIMOV et KAZAKOV sur la présence de carotène dans des vases sapropéliques.

et la fraction des hydrocarbures était colorée en brun orange. Nous l'avons évaporé à 10 cm³ espérant ainsi pouvoir précipiter des stérols. Mais comme après un séjour à la glacière il ne s'était formé qu'un léger précipité amorphe, nous l'avons filtré directement sur une colonne d'oxyde de calcium. Trois zones se sont formées dont l'une, violette sur la partie supérieure de la colonne paraissait assez fortement adsorbée. La deuxième, violette également, descendait lentement, précédée par la troisième, jaune orange qui passait la première dans le filtrat. Celui-ci contenait à peu près 5 mg. de carotène et a donné après évaporation à 2 cm³ un précipité amorphe et peu coloré ; après addition de 4 cm³ d'alcool absolu ce précipité a augmenté. Nous l'avons filtré et évaporé le filtrat à 3 cm³ et avons ainsi obtenu 1 mg. de *cristaux de carotène* (484, 450 m μ dans l'éther de pétrole, point de fusion 170-173°). D'après le spectre d'absorption ce serait surtout du carotène β .

Les deux pigments des zones violettes présentaient une bande peu précise à 490 m μ (dans CS₂). Il est assez probable que l'un d'eux soit la myxoxanthine dérivée des restes de myxophycées, présents sans doute dans cette vase.

La partie médiane de la colonne de chaux était colorée en rose sans dessiner un anneau bien défini. Après avoir élué cette partie nous avons obtenu une solution jaune-orange contenant à peu près 1 mg.,5 de pigment avec une bande peu précise à 480 m μ (dans l'éther de pétrole).

Fraction des xanthophylles. — Un essai d'adsorption préliminaire sur la chaux a montré que cette fraction était assez complexe et contenait beaucoup de produits de dégradation de la chlorophylle. Pour les éliminer nous l'avons saponifié. Après avoir repris les xanthophylles par l'éther de pétrole nous avons concentré cette solution (contenant 10 mg. de pigment) à 30 cm³. Un précipité amorphe orange-foncé s'est formé à la glacière. Nous l'avons dissous dans 2 cm³ de méthanol à 90 p. 100 et avons ajouté un peu d'eau et d'éther de pétrole ; 0 mg.,5 d'un précipité cristallin se sont formés. Sous le microscope on pouvait très bien distinguer deux sortes de cristaux : de longues aiguilles jaunes ramifiées et de petites de couleur rougeâtre. Pour essayer de séparer ces deux pigments nous les avons dissous dans le benzène puis avons ajouté un volume égal d'éther de pétrole et l'avons filtré à travers une colonne de carbonate de calcium. Deux zones se sont formées sur la partie supérieure de la colonne ; la première rouge, la deuxième jaune. Malheureusement elles étaient si proches l'une de l'autre que nous n'avons pas pu les séparer. L'emploi d'adsorbants et de solvants différents n'a pas amélioré ce résultat. Le spectre d'absorption du mélange des ces deux pigments présentait deux bandes diffuses (480, 448 m μ dans l'éther de pétrole), comme un mélange de lutéine et de zéaxanthine. Mais la couleur, l'adsorbabilité et la forme des cristaux nous font penser qu'il ne s'agit pas de ces pigments.

Le filtrat des cristaux a donné encore une petite quantité de produit cristallisé (0 mg.,3). L'eau mère de cette fraction adsorbée sur du carbonate de calcium a donné une dizaine de zones différentes que nous caractérisons brièvement dans le tableau suivant :

Zone	Couleur	Spectre d'absorption dans l'éther de pétrole	Remarques
1.	jaune	478 442 m μ	traces
2.	»	» »	} très proches l'une de l'autre
3.	»	476 442 m μ	
4.	»	» »	zone diffuse
5.	»	475 445 m μ	
6.	»	447 444 m μ	»
7.	»	—	»
8.	rose	—	traces
9.	»	—	—
10.	»	—	—
11.	jaune	—	—

La complexité de cette fraction n'est guère étonnante quand on pense au grand nombre de plantes et animaux différents qui ont laissé leurs caroténoïdes dans cette vase.

La fraction des xanthophylles estérifiées obtenue après saponification contenait 2 mg. de pigment, le même à peu près que celui de la fraction des xanthophylles libres.

Echantillon n° 2. — Nous avons traité ce produit comme le premier. Après adsorption sur la chaux nous avons obtenu une solution contenant 0 mg.,25 de carotène (pour 10 g. de matière sèche) ; à côté du carotène se trouvait un pigment adsorbé sur la colonne dans une zone rose et rappelant le premier pigment rose trouvé dans l'échantillon n° 1. Les xanthophylles n'ont pas été étudiées de plus près.

Echantillon n° 3. — Ce produit a été épuisé avec de l'acétone et du benzène. Le benzène a été ensuite évaporé à sec dans le vide et le résidu dissous dans l'éther de pétrole. La fraction des hydrocarbures de 10 g. de matière sèche contenait 2 mg.,5 de pigment. L'adsorption sur la chaux a donné trois zones violettes tandis que le carotène (0 mg.,5) passait dans le filtrat.

RÉSUMÉ.

La première partie du présent travail donne un court exposé des méthodes employées. L'adsorption chromatographique joue un grand rôle dans la séparation et la purification des pigments caroténoïdes.

Dans *la deuxième partie* nous donnons les résultats d'une étude des pigments de la peau de six Poissons. Trois d'entre eux ont permis d'obtenir l'astacine à l'état cristallisé. Les trois autres contiennent un pigment très proche de la taraxanthine. L'astacine et la taraxanthine ont chacune quatre atomes d'oxygène ; il paraît y avoir entre ces 2 pigments un rapport biologique direct.

La troisième partie est consacrée aux caroténoïdes de 14 espèces d'Invertébrés.

1) Des quatre *Ascidies* étudiées, deux ont donné de l'astacine cristallisée. Les deux autres contiennent surtout des xanthophylles. Dans *Halocynthia papillosa* nous avons trouvé une nouvelle xanthophylle, la *cynthiaxanthine*, présentant beaucoup d'analogies avec la zéaxanthine.

2) Les *glandes génitales* de la Coquille St-Jacques (*Pecten maximus*) contiennent une xanthophylle $C_{40}H_{54}O_3$ que nous avons appelée *pectenoxanthine*. Ce pigment a 11 doubles liaisons et 2 groupes hydroxyles. Son spectre d'absorption présente 3 bandes situées à 518, 586, 452 m μ (dans CS_2). Le troisième atome d'oxygène forme probablement un groupe carbonyle. La pectenoxanthine n'est pas une provitamine A.

3) Les Copépodes *Calanus finmarchicus* ont fourni de l'astacine cristallisée. Ce pigment est accompagné de traces de carotène. *Calanus finmarchicus* se développe en grandes quantités dans les eaux septentrionales ; les poissons dont nous tirons la vitamine A s'en nourrissent. Aussi nos résultats sont-ils importants pour l'étude de l'origine de la vitamine A du foie des poissons.

4) L'Oursin, *Strongylocentrotus lividus*, contient plusieurs caroténoïdes nouveaux. Dans les glandes sexuelles nous avons trouvé l'*échinénone*, $C_{40}H_{58}O$, pigment épiphasique qui agit comme provitamine A. Son spectre d'absorption présente une large bande avec maximum à 488 m μ (dans CS_2) ; ce pigment est par conséquent une *cétone*. Nous avons déterminé partiellement sa structure chimique.

Le mésentère de l'Oursin contient plusieurs xanthophylles à 5, 6 et 7 atomes d'oxygène. La *pentaxanthine* $C_{40}H_{56}O_5$, seule xanthophylle à 5 atomes d'oxygène connue jusqu'ici, en a été isolée à l'état pur. Sa molécule contient 11 doubles liaisons et 3 groupes hydroxyles. Les 2 autres atomes d'oxygène forment probablement des groupes cétoniques. Le spectre d'absorption de la pentaxanthine présente trois bandes (506, 474, 444 $m\mu$ dans CS_2).

5) Le présent travail montre qu'il existe des *xanthophylles d'origine animale* dont le spectre d'absorption ne diffère que peu de ceux des xanthophylles végétales. En outre nous avons constaté que ces dernières se trouvent très rarement dans les organes des Animaux Inférieurs. Il paraît y avoir un mécanisme spécial qui les élimine ou les transforme.

6) L'examen de la *nature chimique* des caroténoïdes spécifiques des Animaux inférieurs nous conduit à conclure que la plupart, sinon tous, sont des *cétones*. Beaucoup d'entre eux, en outre, contiennent des groupes *hydroxyles* ; il n'y a *pas d'hydrocarbures* parmi eux.

7) En ce qui concerne l'*origine* des caroténoïdes spécifiques des Animaux inférieurs, deux possibilités se présentent : ou bien ils se forment par *oxydation* et par d'autres transformations des caroténoïdes végétaux de la nourriture ; ou bien ils sont synthétisés par les animaux à partir de corps incolores. Le premier mode de formation est établi par des expériences indiscutables. Le deuxième paraît moins certain, mais plusieurs expériences et certaines considérations rendent sa réalité plausible.

La *quatrième partie* décrit des essais sur 12 espèces de Cryptogames dont 9 espèces de Champignons. Il en ressort que les Champignons sont dépourvus de xanthophylles, mais contiennent, à côté de carotène, des lipochromes épiphasiques très foncés dont le plus important est le *torulène* (bandes d'absorption dans CS_2 à 564, 522, 491, 461 $m\mu$). Ce pigment se rapproche de très près de la rhodoviolascine de KARRER et SOLMSSEN ; la discussion de ces rapports conduit à une formule de structure hypothétique du torulène. En outre on trouve fréquemment chez les champignons un pigment acide rappelant l'astacine, mais beaucoup plus foncé (bandes d'absorption dans CS_2 : 583, 543, 500 $m\mu$).

La *cinquième partie* est consacrée aux caroténoïdes de trois échantillons de vase lacustre. Ils contiennent du *carotène*, d'autres corps épiphasiques rappelant la myxoxanthine de HEILBRON et LYTHGOE et un grand nombre de *xanthophylles* différentes dont deux ont été obtenues à l'état cristallisé.

TABLEAU I.

Les caroténoïdes naturels.

Pigment	Spectre d'absorption dans CS_2	Formule	Doubles liaisons	Groupes caractéristiques	Auteurs
Actinoérythrine.....	574 533	—	—	—COOH	LEDERER (2), HEILBRON, JACKSON et JONES.
Rhodoviolascine.....	573 534	$C_{42}H_{60}O_2$	13	2—OCH ₃	KARRER et SOLMSEN (1, 2, 4, 5).
Bacterioruberine.....	571 532	—	—	—OH	PETTER, LEDERER (p. 76).
Rhodoxanthine.....	564 525	$C_{40}H_{54}O_2$	12	2—CO	KUHN et BROCKMANN (3).
Torulène.....	564 522	—	—	—	LEDERER (3).
Rhodovibrine.....	556 517	—	—	—	KARRER et SOLMSEN (1, 2, 4, 5).
Rhodopurpurine.....	550 511	—	—	—	KARRER et SOLMSEN (1, 2, 4, 5).
Astacine.....	550-450	$C_{40}H_{50}O$	11	4—CO	KUHN et LEDERER (7), KARRER, LOEWEN, et HÜBNER.
Euglenarhodone.....	550-450	$C_{40}H_{50}O_4$	14	4—CO	TISCHER.
Lycopène.....	548 507	$C_{40}H_{56}$	13	hydrocarbure	WILLSTÄTTER, KARRER, KUHN.
Lycocoxanthine.....	548 507	$C_{40}H_{56}O$	13	1—OH	ZECHMEISTER et CHOLNOKY (3).
Lycophylle.....	548 507	$C_{40}H_{56}O_2$	13	2—OH	ZECHMEISTER et CHOLNOKY (3).
Rhodopine.....	547 508	—	—	—	KARRER et SOLMSEN (1, 2, 4, 5).
Capsanthine.....	542 503	$C_{40}H_{52}O_3$	10	2—OH, 1—CO	ZECHMEISTER et CHOLNOKY (1, 2).
Capsorubine.....	541 503	$C_{40}H_{50}O_4$	10	2—OH, 2—CO	ZECHMEISTER et CHOLNOKY (1, 2).
Carotène γ	533 495	$C_{40}H_{56}$	12	hydrocarbure	KUHN et BROCKMANN (2).
Rubixanthine.....	533 494	$C_{40}H_{56}O$	12	1—OH	KUHN et GRUNDMANN (2).
Bixine.....	523 488	$C_{22}H_{30}O_4$	9	2—COOH	KARRER, KUHN.
Citraurine.....	523 488	$C_{30}H_{40}O_2$	9	1—CHO	ZECHMEISTER et TUSZON, KARRER et SOLMSEN.
Carotène β	521 443	$C_{40}H_{56}$	11	hydrocarbure	KUHN et LEDERER (1, 2), KARRER et COLL.
Leprotène.....	524 485	—	—	hydrocarbure	GRUNDMANN et TAKEDA.
Echinénone.....	(520) 488	$C_{40}H_{56}O$	—	1—CO	LEDERER (13), LEDERER et MOORE.

TABEAU I (suite).

Les caroténoïdes naturels.

Pigment	Bandes d'absorption dans CS ₂	Formule	Doubles liaisons	Groupes caractéristiques	Auteurs
	(mμ)				
Myxoxanthine.....	520-450	C ₄₀ H ₅₄ O	12	1-CO	HEILBRON et LYTHGÖE.
Cryptoxanthine.....	518 183	C ₄₀ H ₅₆ O	11	1-OH	KUHN et GRUNDMANN (4).
Zéaxanthine.....	518 183	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	11	2-OH	KARRER, WEHRLI et HELFFENSTEIN.
Myxoxanthophylle.....	518 484 (M ₁₃)	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	—	—	HEILBRON et LYTHGÖE.
Pectenoxanthine.....	518 483	C ₄₀ H ₅₄ O ₃	11	2-OH, 1-CO	LEDERER (5, 6).
Cynthiaxanthine.....	517 488	—	—	—	LEDERER (9).
Suicénoxanthine.....	516 482	C ₄₀ H ₅₆ O ₆	—	OH	HEILBRON, JACKSON et JONES.
Pétaioxanthine.....	515 481	C ₄₀ H ₅₆ O ₃	—	OH	ZECHMEISTER, BERES et UHLELY.
Anthéraxanthine.....	512 481	C ₄₀ H ₅₆ O ₃	—	OH	KARRER et OSTWALD.
Fucoxanthine.....	510 477	C ₄₀ H ₅₈ O ₆	10	1-OH, 2-CO	WILLSTÄTTER, KARRER, HEILBRON.
Carotène z.....	509 477	C ₄₀ H ₅₆ O	11	hydrocarbure	KUHN et LEDERER (1, 3), KARRER et WALKER.
Luteine xanthophylle.....	508 476	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	11	2-OH	WILLSTÄTTER, KUHN, WINTERSTEIN et LEDERER.
Pentaxanthine.....	506 474	C ₄₀ H ₅₆ O ₃	11	3-OH	LEDERER (13).
Eloxanthine.....	502 472	—	14	—	HEY.
Flavorhodine.....	502 472	C ₄₀ H ₅₆ O ₄	—	3-OH	KARRER et SOLMSEN (4, 2, 4, 5).
Violaxanthine.....	501 469	C ₄₀ H ₅₆ O ₄	10	3-OH	KUHN et WINTERSTEIN.
Taraxanthine.....	501 469	C ₄₀ H ₅₆ O ₄	10	3-OH	KUHN et LEDERER (4, 6).
Azafrine.....	486 457	C ₃₉ H ₅₈ O ₄	7	2-OH, 1-COOH	KUHN et DEUTSCH.
Croceïne.....	482 453	C ₃₉ H ₅₄ O ₄	7	2-COOH	KARRER, KUHN.
Flavoxanthine.....	478 447	C ₄₀ H ₅₆ O ₃	11	3-OH	KUHN et BROCKMANN (1)

Ce tableau a été établi d'après un tableau donné par KARRER en 1936. Il comprend tous les caroténoïdes obtenus à l'état cristallisé. Beaucoup d'autres caroténoïdes ne sont pas encore connus à l'état pur. Nous n'avons cité que les travaux les plus importants.

Dans ce travail nous employons le terme « xanthophylle » dans le sens de KUHN, WINTERSTEIN et LEDERER, c'est-à-dire pour désigner tous les caroténoïdes qui sont des alcools à 40 atomes de carbone.

TABLEAU II.
Les espèces étudiées.

	Organe étudié	Pigments isolés
VERTÉBRÉS		
I. Poissons :		
1. <i>Beryx decaedactylus</i>	peau (*)	astacine
2. <i>Carassius auratus</i>	— (*)	astacine
3. <i>Sebastes marinus</i>	—	astacine
4. <i>Perca fluviatilis</i>	—	a) astacine ; b) « taraxanthine »
5. <i>Esox lucius</i>	—	« taraxanthine »
6. <i>Lota lota</i>	—	« taraxanthine »
7. <i>Eliginus navaga</i>	ovaires	carotène β + 3 xanthophylle
II. Reptiles :		
8. <i>Chrysomys scripta elegans</i>	peau	carotène γ
INVERTÉBRÉS		
I. Tuniciers :		
9. <i>Dendrodoa grossularia</i>	en entier (*)	astacine
10. <i>Halocynthia papillosa</i>	— (*)	astacine + cythiaxanthine
11. <i>Microcosmus sulcatus</i>	—	différentes xanthophylles
12. <i>Botryllus Schlosseri</i>	— (*)	différentes xanthophylles
II. Mollusques :		
13. <i>Pectunculus glycymeris</i>	ovaires (*)	xanthophylles
14. <i>Pecten maximus</i>	— (*)	pectenoxanthine
III. Anthropodes :		
a) Insectes.		
15. <i>Coccinella septempunctata</i>	élytres (*)	carotène et lycopène
16. <i>Pyrrhocoris apterus</i>	— (*)	lycopène
17. <i>Oedipoda miniata</i>	ailes (*)	carotène β + xanthophylle
b) Crustacés.		
18. <i>Eupagurus prideauxii</i>	en entier	astacine
19. <i>Calanus finmarchicus</i>	—	astacine

TABLEAU II (suite).

	Organe étudié	Pigments isolés
IV. <i>Echinodermes</i> :		
20. <i>Strongylocentrotus lividus</i>	en entier	éclhinénone, pentaxanthine et autres xanthophylles
V. <i>Eponges</i> :		
21. <i>Suberites domuncula</i>	—	pigments épiphasiques
22. <i>Ficulina ficus</i>	—	pigments épiphasiques
B. Plantes. — Cryptogames.		
I. <i>Ascomycètes</i> :		
23. <i>Polystigma rubrum</i>	en entier (*)	lycoxanthine + pigment acide
II. <i>Schizomycètes</i> :		
24. <i>Torula rubra</i>	—	torulène, carotène β + pigment acide
25. <i>Sporobolomyces roseus</i>	— (*)	torulène + pigment acide
26. <i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	— (*)	torulène + pigment acide
III. <i>Basidiomycètes</i> :		
27. <i>Puccinia coronifera</i>	urédospores (*)	carotène + pigment acide
28. <i>Coleosporium senecionis</i>	— (*)	carotène et pigment acide
29. <i>Tremelia mesenterica</i>	en entier (*)	carotène β
30. <i>Aleuria aurantia</i>	—	carotène β + γ + rubixanthine
IV. <i>Chlorophycés</i>		
31. <i>Trendeplodia aurea</i>	—	carotène β
V. <i>Myxomycètes</i>		
32. <i>Lycogala epidendron</i>	sporangies	torulène + rhodoviolascine + carotène β
VI. <i>Bactéries</i> :		
33. <i>Bacterium halobium</i>	en entier	bactériorubérine
34. <i>Sarcina lutea</i>	— (*)	sarcinène (hydrocarbure et xanthophylle)

Les espèces marquées (*) ont été l'objet d'une communication préliminaire.

LISTE DES PHOTOGRAPHIES ET COURBES.

	Pages
1. Cristaux de pectenoxanthine	29
2. Spectre d'absorption de la pectenoxanthine	30
3. Hydrogénation de la pectenoxanthine	32
4. Essais biologiques avec la pectenoxanthine	33
5. Cristaux d'échinénone	45
6. Essais biologiques avec l'échinénone	49
7. Cristaux de pentaxanthine	51
8. Spectre d'absorption de la pentaxanthine	52
9. Hydrogénation de la pentaxanthine	53
10. Spectre d'absorption du torulène	67

Les figures 2, 8 et 10 ont été faites dans le laboratoire du Professeur KUNN, à Heidelberg. Nous le remercions ici aussi de son amabilité.

BIBLIOGRAPHIE.

- AHMAD a. MALIK. — *Ind. J. med. Res.*, 1933, **20**, 1033.
ABELOOS (M.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1926, **94**, 19.
AHMAD. — *Biochem. J.*, 1935, **24**, 860 ; 1931, **25**, 1195.
ANDERSON. — *Journ. biol. Chem.*, 1933, **101**, 773.
BAMBERGER u. LANDSIEDL. — *Monatsh. f. Chem.*, 1900, **21**, 571.
BAUDISCH (O.) u. EULER (H. v.). — *Arkiv. Kemi, Mineralogi, Geologi*. 1935, II A, n° 21.
BERG (L. C.). — Poissons d'eau douce de l'U. R. S. S. Leningrad, 1932, 1933.
BERGMANN (W.) u. JOHNSON (T. B.). — *Z. physiol. Chem.*, 1931, **222**, 220.
BERTRAND (G.) et POIRAULT (G.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1892, **115**, 828.
BROCKMANN (H.) u. VÖLCKER (D.). — *Z. physiol. Chem.*, 1933, **224**, 193.
BROWN (F. A. J.). — *Biol. Bull.*, 1934, **67**, 365.
BURKHARDT (G. N.), HEILBRON (I. M.), JACKSON (H.), PARRY (E. G.) et LOVERN (J. A.). — *Biochem. J.*, 1934, **28**, 1698.
CHAPMAN (A. C.). — *Biochem. J.*, 1916, **10**, 548.
CHARGAFF (E.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1934, **52**, 415.
CHARGAFF (E.) et LEDERER (E.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1935, **54**, 383.
COHN. — *Arch. mikrosk. Anat.*, 1867, **3**, 44.
CUNNINGHAM (J. C.) a. MAC MUNN (C. A.). — *Trans. Roy. Soc. London, B*, 1891, **184**, 765.
DHÉRÉ (C.) et VEGEZZI (G.). — *Journ. Physiol. Pathol. gén.*, 1917, p. 44.
DRUMMOND (J. C.) et GUNTHER. — *J. exp. Biol.*, 1934, **11**, 203.
EDISBURY, LOVERN a. MORTON (R. A.). — *Biochem. Journ.*, 1937, **31**, 416.
EDISBURY (J. R.), MORTON (R. A.) a. SIMPKINS (G. W.). — *Nature*, 1937, **140**, 234.
EDISBURY (J. R.), MORTON (R. A.), SIMPKINS (G. W.) et LOVERN (J. A.). — *Biochem. J.*, 1938, **31**, 118.
EEKELEN (M. v.). — *Klin. Wochenschr.*, 1935, **14**, 829.
EEKELEN (M. v.) a. EMMERIE (A.). — *Nature*, 1933, **131**, 275.
EEKELEN (M. v.), EMMERIE (A.), JULIUS (H. v.) a. WOLFF (L. K.). — *Acta Brevia Neerlandica*, 1931, **1**, 8.
EMMERIE (A.). — *Nature*, 1933, **131**, 364.
EMMERIE (A.), EEKELEN (M. v.), JOSEPHY (B.) a. WOLFF (L. K.). — *Acta Brevia Neerlandica Physiol.*, 1934, **4**, 139.
EULER (H. v.), HELLSTRÖM (H.). — *Z. physiol. Chem.*, 1934, **223**, 105.
EULER (H. v.), HELLSTRÖM (H.) a. KLUSSMANN (E.). — *Z. physiol. Chem.*, 1934, **228**, 77.
EULER (H. v.), HELLSTRÖM (H.) u. MALMBERG (M.). — *Svensk. chem. Tidskr.*, 1933, **45**, 151.
FABRE (R.) et LEDERER (E.). — 1. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, **113**, 344.
2. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1934, **16**, 105.
FINK (H.) u. ZENGER (E.). — *Wochenschrift f. Brauerei*, 1934, n° 12.
FOX (D. L.). — 1. *American Naturalist*, 1936, **70**, 477. — 2. *Proc. National Acad. Sc.*, 1937, **23**, 295.
GILLAM (A. E.) et EL RIDI (M. S.). — *Biochem. J.*, 1936, **30**, 1735.
GILLAM (A. E.), EL RIDI (M. S.) et KON (S. K.). — *Biochem. J.*, 1937, **31**, 1605.
GILLAM (A. E.), HEILBRON (I. M.), JONES (W. E.) et LEDERER (E.). — *Biochem. J.*, 1938, **32**, 405.

- GIRARD (A.) et SANDULESCO (G.). — *Helv. Chem. Acta*, 1936, **29**, 1095.
 GRUNDMANN (Chr.) u. TAKEDA. — *Naturwissensch.*, 1937, 27.
 HALLIBURTON (W. D.). — *J. Physiol.*, 1885, **6**, 300 ; 1886, **7**, 324.
 HEILBRON (I. M.), JACKSON (H.) a. JONES (R. N.). — *Biochem. J.*, 1935, **29**, 1384.
 HEILBRON (I. M.) a. JONES (W. E.). — *J. Soc. Chem. Ind.*, 1936, **55**, 813.
 HEILBRON (I. M.) a. LYTHGOE (B.). — *J. Chem. Soc. London*, 1936, 1376.
 HEILBRON (I. M.), PARRY (E. G.) a. PHIPERS (R. F.). — *Biochem. J.*, 1935, **29**, 1376.
 HEILBRON (I. M.) a. PHIPERS (R. F.). — *Biochem. J.*, 1935, **29**, 1169.
 HEY. — *Biochemical Journal*, 1937, **31**, 532.
 HJORT. — *Proc. Roy. Soc., Lond.*, 1922, **93**, 440.
 JAVILLIER (M.). — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1930, **47**, 489.
 JAVILLIER (M.), BAUDE (P.) et LEVY-LAJEUNESSE. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 39.
 JAVILLIER (M.) et EMERIQUE (L.). — 1. *C. R. Acad. Sc.*, 1930, **190**, 655.
 2. *C. R. Ac. Sc.*, 1930, **191**, 226. 3. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1930, **12**, 1355.
 KARRER (P.) et BENZ (F.). — *Helv. Chim. Acta*, 1934, **17**, 412.
 KARRER (P.), HELFFENSTEIN, WEHRLI, PIEPER et MORF (R.). — *Helv. Chim. Acta*, 1931, **14**, 614.
 KARRER (P.) et LOEWE (L.). — *Helv. Chim. Acta*, 1934, **17**, 745.
 KARRER (P.), LOEWE (L.) et HÜBNER (H.). — *Helv. Chim. Acta*, 1935, **18**, 96.
 KARRER (P.) et MORF (R.). — *Helv. Chim. Acta*, 1933, **16**, 625.
 KARRER (P.) et OSWALD (A.). — *Helv. Chim. Acta*, 1935, **18**, 1303.
 KARRER (P.), RÜBEL et STRONG. — *Helv. Chim. Acta*, 1936, **19**, 28.
 KARRER (P.), SCHÖPP et MORF (R.). — *Helv. Chim. Acta*, 1932, **15**, 1158.
 KARRER (P.) et SOLMSSSEN (U.). — 1. *Helv. Chim. Acta*, 1935, **18**, 25. —
 2. *Ibid.*, 1935, **18**, 1306. — 3. *Ibid.*, 1935, **18**, 915. — 4. *Ibid.*, 1936, **19**, 3. — 5. *Ibid.*, 1936, **19**, 1019. — 6. *Ibid.*, 1937, **20**, 682.
 KARRER (P.), SOLMSSSEN et GUGELMANN. — *Helv. Chim. Acta*, 1937, **20**, 1020.
 KARRER (P.) et WALKER (O.). — *Helv. Chim. Acta*, 1933, **16**, 641.
 KLIMOV (B. K.) et KAZAKOV (E. L.). — *C. R. Acad. Sci. U.R.S.S.*, N. S. 1937, **16**, 321.
 KLINE, SCHULTZE et HART. — *Journ. Biol. Chem.*, 1932, **97**, 83.
 KRUKENBERG (C. Fr. W.). — *Vergl. physiol. Studien*, Série I, 1881 ; Série II, 1882.
 KUHN (R.) et BROCKMANN (H.). — 1. *Ztschr. physiol. Chem.*, 1932, **213**, 192. — 2. *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1933, **66**, 407. — 3. *Ibid.*, 1933, **66**, 828. — 4. *Ibid.*, 1933, **66**, 1319.
 KUHN (R.), BROCKMANN (H.), SCHEUNERT (A.) et SCHIEBLICH (M.). — *Ztschr. physiol. Chem.*, 1933, **221**, 129.
 KUHN (R.) et DEUTSCH (A.). — *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1933, **66**, 883.
 KUHN (R.) et GRUNDMANN (Chr.). — 1. *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1933, **66**, 1746. — 2. *Ibid.*, 1934, **67**, 339. — 3. *Ibid.*, 1934, **67**, 593, 596.
 KUHN (R.) u. LEDERER (E.). — 1. *Naturwissensch.*, 1931, **19**, 306. — 2. *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1931, **64**, 1349. — 3. *Ztschr. physiol. Chem.*, 1931, **200**, 108. — 4. *Ibid.*, 1931, **200**, 246. — 5. *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1932, **65**, 637. — 6. *Ztschr. physiol. Chem.*, 1932, **213**, 188. — 7. *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1933, **66**, 488.
 KUHN (R.), LEDERER (E.) u. DEUTSCH (A.). — *Ztschr. physiol. Chem.*, 1933, **220**, 229.
 KUHN (R.) u. MOELLER (E. F.). — *Ztschr. angewandt. Chem.*, 1934, **47**, 145.

- KUHN (R.), WINTERSTEIN (A.) u. LEDERER (E.). — *Ztschr. physiol. Chem.*, 1931, **197**, 141.
- KYLIN (H.). — *Ztschr. physiol. Chem.*, 1912, **82**, 221.
- LEBOUR. — *J. Mar. Biol. Assoc. U. Kingdom*, 1921, **12**, 1918.
- LEDERER (E.). — 1. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, **113**, 1015. — 2. *Ibid.*, 1933, **113**, 1391. — 3. *C. R. Ac. Sc.*, 1933, **197**, 1694. — 4. Les Caroténoïdes des Plantes, Hermann et Cie. Paris, 1934. — 5. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **116**, 150. — 6. *Ibid.*, 1934, **117**, 411. — 7. *Ibid.*, 1934, **117**, 413. — 8. *Ibid.*, 1934, **117**, 1083. — 9. *Ibid.*, 1934, **117**, 1086. — 10. *Ibid.*, 1935, **118**, 542. — 11. Les Caroténoïdes des Animaux, Hermann et Cie, Paris, 1935. — 12. *Chimie et Industrie*, 1935, **33**, n° 5. — 13. *C. R. Ac. Sc.*, 1935, **201**, 300.
- LEDERER (E.) a. MOORE (Th.). — *Nature*, 1936, **137**, 996.
- LEDERER (E.) et ROSANOVA (V.). — *Biochimie*, 1937, **2**, 293.
- LEDERER (E.), ROSANOVA (V.), GILLAM (A. E.) a. HEILBRON (I. M.). — *Nature*, 1937, **140**, 233.
- LÖNNBERG (E.). — 1. *Ark. Zool.*, 1929, B 21, n° 3. — 2. *Ibid.*, 1929, A 21, n° 10. — 3. *Ibid.*, 1931, A 23, n° 15. — 4. *Ibid.*, 1931, A 22, n° 14. — 5. *Ibid.*, 1931, A 23, n° 15. — 6. *Ibid.*, 1932, A 23, n° 4. — 7. *Ibid.*, 1932, A 25, n° 1. — 8. *Ibid.*, 1933, A 26, n° 3, 7. — 9. *Ibid.*, 1934, A 28, n° 4, 11. — 10. *Ibid.*, 1935, B 28, n° 8, 15. — 11. *Ibid.*, 1938, A 30, n° 6.
- LWOFF (A.). — *Bull. biol. France et Belge*, 1927, **61**, 193.
- MAC MUNN (C. A.). — 1. *Proc. Birmingham Phil. Soc.*, 1883, **3**, 351. — 2. *J. Physiol.*, 1888, **9**, 1. — 3. *Journ. Micros. Sc. N. S.*, 1890, **30**, 51.
- MEREJKOWSKI (C. de). — 1. *C. R. Ac. Sc.*, 1881, **93**, 1029. — 2. *Bull. Soc. Zool. France*, 1883, **8**, 81.
- MOORE (Th.). — 1. *Biochem. J.*, 1929, **23**, 803, 1267. — 2. *Ibid.*, 1930, **24**, 692. — 3. *Ibid.*, 1931, **25**, 275, 2131. — 4. *Ibid.*, 1932, **26**, 1. — 5. *Ibid.*, 1933, **27**, 898.
- MORGAN (A. F.), EDISBURY (J. R.) a. MORTON (R. A.). — *Biochem. J.*, 1935, **29**, 1645.
- MÜLLER (J.). — *Landw. Jahrb. v. Thiel*, 1886, 719.
- NEWBIGIN (M.). — 1. *Colour in nature, a study in biology*, John Murray, London, 1898. — 2. *J. Physiol.*, 1897, **21**, 237.
- PALMER (L. S.). — Carotenoids and related pigments, *Am. chem. Soc. Monographs*, New-York, 1922.
- PALMER (L. S.) a. KNIGHT (H. H.). — *J. Biol. Chem.*, 1924, **59**, 443.
- PAULSEN (O.). — *Med. fra Komiss f. Hav sunders Plankton Bd I*, n° 4, 1906.
- PETTER. — *Over roode en andere Bacterien van gezonten Visch. Diss.*, Utrecht, 1932.
- PHYSALIX (C.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1894, **118**, 1282.
- POUCHET (G.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1872, **74**, 757.
- PRZIBRAM (H.) u. LEDERER (E.). — *Akad. Wiss. Wien. Math. Naturwiss. Kl. Akad. Anz.*, n° 17, 1933.
- SCHOPFER (H.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1935, **113**, 3.
- SOERENSEN (N. A.). — 1. *Kgl. Norsk. Vidensk. Selsk. Forh.*, 1933, **6**, 154. — 2. *Ibid.*, n° 1, 1934. — 3. *Ztschr. physiol. Chem.*, 1935, **235**, 8. — 4. *Kgl. Norsk. Vidensk. Selsk. Sk.*, 1936, n° 1.
- SOLMSEN (U.). — *Untersuchungen über Carotinoide*, *Diss.*, Zürich, 1936.
- SUMNER (F. B.) a. FOX (D. L.). — 1. *Journ. Exp. Zoology*, 1933, **66**, 263. — 2. *Ibid.*, 1935, **71**, 101. — 3. *Proc. National Acad. Sc.*, 1935, **21**, 330.
- TEISSIER (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1932, **109**, 813.
- TISCHER (J.). — 1. *Ztschr. physiol. Chem.*, 1936, **239**, 257. — 2. *Ibid.*, 1936, **243**, 103.

- TSWETT (M.). — 1. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, 1908, **41**, 1352. — 2. *Ibid.*, 1910, **43**, 3199. — 3. *Ibid.*, 1911, **44**, 1124.
- TUTYIA (Y.). — *Bull. Jap. Soc. Sc. Fisheries*, 1935, **3**, 242.
- VERNE (J.). — 1. *Thèse Docteur ès-Sc., Paris*, 1921. — 2. *Arch. Morphol. gén. et exp.*, 1923. — 3. Les pigments dans l'organisme animal, Doin, Paris, 1926. — 4. Couleurs et pigments des êtres vivants. Colin, 1930.
- WALD (G.). — *Journ. Biol. Chem.*, 1938, **122**, 449.
- WEISSBERGER (A.) u. BACH (H.). — *Naturwiss.*, 1932, **20**, 350.
- WILL (H.). — *C. F. Bakterien u. Par. II, Abt.*, 1912, **35**, 61.
- WILLSTÄDT (H.). — 1. *Svensk. Kemisk. Tidsk.*, 1934, **46**, 205, 261. — 2. Carotinoide, Bakterien, u. Pilzfarbstoffe. Stuttgart, Enke, 1937.
- WILLSTÄTTER (R.) u. ESCHER (H. H.). — *Ztschr. physiol. Chem.*, 1912, **76**, 214.
- WILLSTÄTTER (R.) u. PAGE (H. J.). — *Liebigs Ann.*, 1914, **404**, 237.
- WINTERSTEIN (A.). — Chromatographische Adsorptionsmethode. *Klein. Handbuch. d. Pflanzenanal.*, 1934.
- YOUNG (R. T.) a. FOX (D. L.). — *Biological Bull.*, 1936, **71**, 217.
- ZECHMEISTER (L.). — 1. Carotinoide, Springer, Berlin, 1934. — 2. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1934, **16**. — 3. Lipochrom u. Vitamin A. Schönfeld. Hefter Chemie u. Technologie d. Fette u. Fettprodukte, Springer, 1936, **1**, 149-193. — 4. Carotinoide im tierischen Stoffwechsel. *Ergeb. Physiol. biol. Chem. u. exp. Pharmacol. Band*, 1937, **39**, 117-191.
- ZECHMEISTER (L.), BERES (T.) u. UJHELY (E.). — *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1936, **69**, 573.
- ZECHMEISTER (L.) u. CHOLNOKY (L. v.). — 1. *Liebigs Ann.*, 1935, **516**, 30. — 2. *Ibid.*, 1936, **523**, 101. — 3. *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1936, **69**, 422. — 4. Die Chromatographische Adsorptionsmethode, Springer, 1937.
- ZECHMEISTER (L.) u. TUZSON (P.). — 1. *Ztschr. physiol. Chem.*, 1934, **225**, 189. — 2. *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1934, **67**, 154. — 3. *Ztschr. physiol. Chem.*, 1934, **226**, 255. — 4. *Ibid.*, 1935, **231**, 259. — 5. *Ibid.*, 1935, **234**, 235, 241. — 6. *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1934, **67**, 154. — 7. *Naturwissensch.*, 1935, **23**, 680. — 8. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1935, **17**, 1110. — 9. *Ztschr. physiol. Chem.*, 1936, **238**, 197. — 10. *Ibid.*, 1936, **239**, 147. — 11. *Nature*, 1938, **141**, 249.
- ZECHMEISTER (L.), TUZSON (P.) a. ERNST (E.). — *Nature*, 1935, **133**, 1039.
- ZOPF (W.). — 1. *Beiträge z. Physiol. u. Morph. niedr. Org.*, 1892, **1**, 30. — 2. *Biol. Z. Bl.*, 1895, **15**, 417. — 3. *Flora, N. S.*, 1889, **47**, 353.

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
INTRODUCTION	5
PREMIÈRE PARTIE. <i>Méthodes</i>	7
DEUXIÈME PARTIE. — <i>Les caroténoïdes des Vertébrés inférieurs.</i>	12
I. Poissons	12
II. Reptiles	19
TROISIÈME PARTIE. — <i>Les caroténoïdes des Invertébrés</i>	20
I. Tuniciers	20
II. Mollusques	26
III. Arthropodes	34
a) Insectes	34
b) Crustacés	36
IV. Echinodermes	40
V. Spongiaires	53
VI. Conclusions	57
QUATRIÈME PARTIE. — <i>Les caroténoïdes des Cryptogames</i>	63
A. Introduction	63
B. Partie systématique	64
I. Ascomycètes	64
II. Schizomycètes	65
III. Basidiomycètes	71
IV. Chlorophycées	73
V. Myxomycètes	74
VI. Bactéries	74
C. Conclusions	77
CINQUIÈME PARTIE (annexe). — <i>Les caroténoïdes de vase lacustre.</i>	79
RÉSUMÉ	82
LES CAROTÉNOÏDES NATURELS	84
LES ESPÈCES ÉTUDIÉES	86
LISTE DES PHOTOGRAPHIES ET COURBES	88
BIBLIOGRAPHIE	89
TABLE DES MATIÈRES	93

DEUXIEME THÈSE.

Propositions données par la Faculté :

Les spectres d'absorption en Chimie Biologique.

Vu et approuvé :

Paris, le 22 Mars 1938.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Ch. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

G. ROUSSY.

IMPRIMERIE M. DECLUME
LONS-LE-SAUNIER.

